



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y
SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

COMPORTAMIENTO SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL DE TRES GENOTIPOS DE CONEJOS DURANTE EL OTOÑO

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

MARCO ANTONIO ARZATE RAMÍREZ



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

DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
COMISIÓN DE EXÁMENES PROFESIONALES



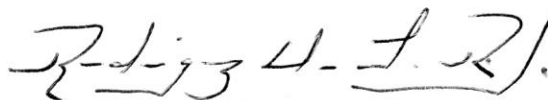
Chapingo, Estado de México, julio de 2019

COMPORTAMIENTO SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL DE TRES
GENOTIPOS DE CONEJOS DURANTE EL OTOÑO

Tesis realizada por **MARCO ANTONIO ARZATE RAMÍREZ** 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. AGUSTÍN RUÍZ FLORES

ASESOR:



M.C. MARIANELLA FALLAS LÓPEZ

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIAS	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
DATOS BIOGRÁFICOS	ix
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Comportamiento sexual	4
2.2. Características seminales	4
2.2.1. Presencia de gel	5
2.2.2. Volumen	5
2.2.3. Concentración	5
2.2.4. pH	5
2.2.5. Aspecto	6
2.2.6. Color	6
2.3. Características espermáticas	7
2.3.1. Motilidad	7
2.4. Factores que afectan el comportamiento reproductivo y la calidad del semen del conejo	7
2.5. Evaluación de la calidad del semen	8
2.5.1. Métodos de evaluación <i>in vivo</i>	8
2.5.2. Métodos de evaluación <i>in vitro</i>	9
2.6. Métodos de análisis seminal	9
2.6.1. Método convencional	9
2.6.2. Sistema de análisis seminal asistido por computadora (CASA) ...	9
2.6.3. Factores que afectan la precisión	11
2.7. Literatura citada	12

3.1.	Resumen.....	16
3.2.	<i>Abstract</i>	17
3.3.	Introducción.....	18
3.4.	Materiales y métodos	20
3.4.1.	Localización	20
3.4.2.	Animales y diseño experimental	20
3.4.3.	Medio ambiente e instalaciones.....	20
3.4.4.	Nutrición y alimentación	20
3.4.5.	Protocolo de colección y análisis de semen.....	21
3.4.6.	Variables de respuesta	22
3.4.7.	Análisis estadístico	22
3.5.	Resultados y discusión.....	23
3.5.1.	Estadísticos descriptivos de comportamiento reproductivo de conejos.....	23
3.5.1.	Comportamiento sexual, características seminales y espermáticas de los conejos	25
3.5.2.	Viabilidad, normalidad, anormalidades espermáticas y dosis potenciales para uso en inseminación artificial.	27
3.6.	Conclusiones.....	37
3.7.	Literatura citada.....	38

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos y coeficientes de variación para peso de los machos al momento de la colección de semen, comportamiento sexual, características seminales, espermáticas y dosis potenciales para inseminación artificial.....	24
Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) para los efectos de genotipo y orden de eyaculado en el comportamiento sexual y en las características seminales y espermáticas de conejos.	25
Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) y comparación múltiple para las subclases de genotipo y orden de eyaculado en la viabilidad, morfología espermática y dosis potenciales para inseminación artificial en conejos... ..	28
Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) y comparación múltiple para las subclases de la interacción genotipoorden de eyaculado para presencia de gel, volumen seminal y porcentaje de espermatozoides con colas enrolladas en conejos.. ..	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Efecto del genotipo en el porcentaje de eyaculados con presencia de gel en relación con el orden de eyaculado en conejos.	30
Figura 2. Efecto del genotipo en el volumen seminal en relación con el orden de eyaculado en conejos.	32
Figura 3. Efecto del genotipo en el porcentaje de espermatozoides con colas enrolladas en relación con el orden de eyaculado en conejos.....	33

DEDICATORIAS

A mis padres, Lorenzo y María Joaquina, quienes me han brindado su amor y apoyo incondicional a lo largo de mi vida.

A mis hermanos, Swetenia y Eduardo, por estar ahí, por su apoyo y compañía.

A mi esposa, Yuridia por obsequiarme esos tesoros, mejor regalo que pude recibir, a mis hijos, Israel, Ángel y Erik, quienes son mi motor y motivación para dar lo mejor de mi día con día.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, a los profesores, por brindarme la formación académica y las facilidades para los estudios y el desarrollo del trabajo de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por asignar los recursos económicos para la realización de los estudios de maestría.

A los profesores, Dr. Raymundo Rodríguez De Lara, Dr. Agustín Ruíz Flores y Dra. Marianella Fallas López, por su asesoría en el desarrollo del trabajo de investigación.

A Conejos Centro de Investigación Científica del Estado de México A. C., por haber brindado las condiciones necesarias para la realización del trabajo de investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: Marco Antonio Arzate Ramírez

Fecha de nacimiento: 08 de febrero de 1985

Lugar de nacimiento: La Huacana, Michoacán de Ocampo

CURP: AARM850208HMNR

Profesión: INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Cédula profesional: 10316750

Desarrollo académico

Licenciatura: Departamento de Enseñanza Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. 2006-2011

Maestría: Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo. 2017-2018

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las unidades de producción cunícola se han apoyado en la inseminación artificial (IA) por ser una técnica útil, que facilita el manejo productivo y reproductivo. Además, la IA ha demostrado que implementada adecuadamente contribuye en la mejora de los parámetros reproductivos, aumentando la fertilidad y prolificidad (Rodríguez-De Lara, 1996).

Para que la IA tenga este efecto positivo es necesario utilizar eyaculados de calidad, por lo que se requiere examinarlos, ya que existen variaciones en sus características. Es difícil predecir el resultado de la IA de forma precisa, pues la capacidad fecundante que tengan dichos eyaculados depende en forma directa de sus parámetros de calidad (Brun, Theau-Clément, & Bolet, 2002).

Los exámenes de calidad que se aplican a las muestras seminales tienen la finalidad de garantizar cierta capacidad fecundante del esperma. Estos exámenes en conejos se realizan con los mismos criterios que en otras especies, divididos en dos grandes apartados: el primero es un análisis donde que incluye características macroscópicas (color, volumen pH, etc.); y el segundo es de tipo microscópico, en el cual se cuantifican variables específicas (motilidad, concentración, porcentaje de espermatozoides vivos, etc.) (Brun et al., 2002; Kuzminsky, Fausto, & Morera, 1996).

En años recientes, en las evaluaciones de semen se ha implementado el uso de métodos automatizados como el “Computer Assisted Semen Analyzer” (CASA) y citometría de flujo; pero debido al costo elevado y equipo especializado que estas pruebas demandan, sólo se realizan en los centros de mejoramiento genético o investigación (Becerra, Peña, Quintela, & Herradón, 2008; Quintero-Moreno, Rigau, & Rodríguez-Gil, 2007).

Los valores de volumen y las características del eyaculado difieren entre machos y en el orden de eyaculado; dichas modificaciones están sujetas a cambios ambientales y de manejo. Es importante conocer cómo estos factores influyen en

la calidad de los eyaculados, ya que con esta información la eficiencia de los parámetros reproductivos puede favorecerse (Roca et al., 2005).

Entre los factores que modifican la calidad seminal están: alojamiento, estación del año, genotipo y alimentación. Por ejemplo, el pH puede variar en un rango de 6 a 7.3; el volumen entre 0.2 y 1.5 mL; y el número de espermatozoides en un rango de 40 a $400 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. Para que un eyaculado tenga las características mínimas aceptables para ser utilizado en IA, su motilidad deberá estar por arriba de 80 %, viabilidad mayor que 70 % y espermatozoides anormales por debajo del 15 % (Arencibia & Rosario, 2009).

Los genotipos California y Nueva Zelanda son los grandes referentes en la cunicultura a nivel mundial, debido a su mayor difusión, la primera raza se usa como paterna y la segunda como materna. Estos genotipos presentan superioridad en algunos parámetros como: tamaño de camada, habilidad materna y ganancia diaria de peso, además del potencial para realizar cruzamientos con fines de producir animales para engorda (híbridos) o para la generación de líneas puras (Blumetto, 2007).

Debido a que en México no existe un estudio similar mediante estas técnicas con genotipos locales, se considera que el presente estudio tendrá un efecto positivo para los productores cunícolas del Valle de México, buscando generar información para favorecer la toma de decisiones al momento de elegir el genotipo que empleará en su unidad de producción. El genotipo híbrido se supone presentará mejores parámetros seminales, debido a la expresión del vigor híbrido.

En el Capítulo 2 se presenta la revisión de literatura del estado de conocimiento sobre características espermáticas de los conejos, así como lo referente a los análisis de semen de conejo.

En el Capítulo 3 se presenta un artículo científico derivado de la fase experimental, donde se caracterizaron los eyaculados de tres genotipos de conejos locales y se obtuvieron parámetros seminales y espermáticos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Comportamiento sexual

El comportamiento del conejo doméstico tiene su origen en el conejo silvestre, pero al pasar toda su vida en jaulas se modifica su comportamiento natural. Por ejemplo, antes de la monta, el macho por lo general gira velozmente en la jaula emitiendo chorros de orina. Sin embargo, el orden de los apareamientos depende de la planeación elaborada por el criador (Fusi, 1994).

En vida libre el período de reproducción está determinado por las condiciones ambientales, en granjas comerciales la reproducción es constante durante todo el año (Vega, 2010).

La libido o instinto sexual está determinado genéticamente; no obstante, los factores ambientales afectan o modifican el desempeño sexual. Entre éstos se destacan la nutrición, la edad, el manejo y algunos factores físicos. La libido puede evaluarse por el número de montas efectuadas en un determinado tiempo. La manifestación del deseo sexual no es suficiente para el depósito del semen en la vagina, también es importante la habilidad de monta (Galina & Valencia, 2012).

2.2. Características seminales

El eyaculado también conocido como, plasma seminal, está conformado por espermatozoides suspendidos en líquido. Esta mezcla es resultado de la combinación de las secreciones del epidídimo y glándulas accesorias. Los compuestos con mayor concentración son: ácido cítrico, fructosa, fosforilcolina, glicerol, inositol, algunas proteínas, iones y pequeñas gotas de grasa (Alvariño, 2000).

2.2.1. Presencia de gel

La eyaculación en esta especie es bifásica: la primera porción está compuesta por espermatozoides y líquido seminal; la segunda por un líquido transparente, con gotas de grasa pequeñas, de apariencia viscosa, fracción a la cual se le conoce como gel. El gel es un agente perjudicial en una muestra de semen que se desee utilizar en IA, ya que confiere un efecto de aglutinación de los espermatozoides, los cuales pierden parte de su movilidad, por lo que es necesario removerlo de la muestra de semen antes de evaluarlo (Alvariño, 1993).

2.2.2. Volumen

El volumen del eyaculado presenta variaciones, las cuales están influenciadas por el semental, la edad, la raza, las condiciones de la unidad de producción y la estación; siendo en el periodo de marzo a junio donde se observa el mayor volumen. Esta variable se cuantifica leyendo directamente los tubos graduados de recogida (Theau-Clément & Vrillon, 1989). Según Lavara, Mocé, Lavara, de Castro y Vicente (2005), el volumen de eyaculado en conejos varía de 0.1 a 1.4 mL.

2.2.3. Concentración

La concentración espermática varía de 280 a 1050 espermatozoides (10^6 mL^{-1}) (Battaglini, 1982, citado por Luzi et al., 2010). Bencheikh (1995) reportó valores de 125 a 800 espermatozoides (10^6 mL^{-1}). En conejos puberales, Aragonés (2002) reportó valores de 240 ± 115 espermatozoides (10^6 mL^{-1}).

2.2.4. pH

Los valores normales del pH varían de 6.8 a 7.3, fuera de ese rango se traducen en una muestra de semen de baja calidad. El pH del semen depende directamente de la secreción de las glándulas sexuales accesorias; la próstata tiene un efecto acidificante y las vesículas seminales tienen propiedades alcalinizantes (Aragonés, 2002).

Cuando una muestra presenta valores de pH ácido, se traduce en una muestra con alto índice de mortalidad espermática. Los espermatozoides son tolerantes a valores de pH alcalinos (Marai, Habeeb, & Gad, 2002).

2.2.5. Aspecto

El aspecto que se considera normal en el eyaculado es opaco, uniforme y con una coloración blanco nácar. En función del grado de opacidad presente en la muestra, se puede inferir acerca de la concentración espermática del mismo; un eyaculado translúcido es indicativo de una baja concentración de espermatozoides, sin embargo, un eyaculado opaco no precisamente tiene que indicar una elevada concentración (González-Urdiales, 2002; Lavara et al., 2005). La higiene es un factor primordial al momento de la colecta de semen y en el manejo posterior de ésta, con la finalidad de evitar que la muestra se contamine con orina, pelo, heces o algún otro agente extraño; en caso de que ésta se llegue a contaminar, se tendría que desechar (González-Urdiales, 2002).

2.2.6. Color

Alvariño (1993) establece que el color adecuado de un eyaculado de conejo es blanco nácar, la cual varía en función de la presencia de agentes anormales, como: sangre, orina o pus. El reflejo de orinar en el momento de la colecta de semen es repetitivo en algunos sementales, o arrojan eyaculados de apariencia viscosa. Dichos conflictos pueden estar relacionados con una ineficiente estimulación del macho antes de llevar a cabo la colecta de semen. La incidencia de eyaculados con presencia de orina es mayor cuando el agua utilizada dentro de la vagina artificial supera 46 °C.

Una vez colectada la muestra, se tiene que observar que no presente orina, lo cual es fácil de identificar ya que la orina le confiere una coloración amarillenta; la mayoría de muestras que presenten dicha coloración pueden contener orina o pus, aunque también podría contener riboflavina, compuesto inofensivo, el cual se puede identificar dado que le confiere un olor particular. Por otro lado, si la

muestra presenta una coloración rojiza, es indicativo de la presencia de sangre, la cual puede estar presente si el pene del semental muestra heridas o lesiones (González-Urdiales, 2002).

2.3. Características espermáticas

2.3.1. Motilidad

La motilidad es una característica de suma importancia en los análisis seminales. Anteriormente, la evaluación de esta característica se realizaba por métodos no muy precisos, los cuales evaluaban los espermatozoides móviles y este valor se expresaba en porcentaje, además de intentar describir la forma en la cual los espermatozoides se desplazaban. Dicho valor sólo ofrecía una descripción a grandes rasgos de la movilidad espermática, esta valoración es demasiado subjetiva, al carecer de precisión, dado que está ligada a la destreza del observador (Mocé, 2003).

Esta valoración se lleva a cabo usando un portaobjetos, una pipeta Pasteur y un microscopio, se toma una gota de la muestra con la pipeta Pasteur y se deposita sobre el portaobjetos, mismo que deberá estar atemperado a 37 °C, para su observación posterior en el microscopio. Para que una muestra pueda usarse en IA deberá tener como mínimo un 60 % de espermatozoides móviles, de los cuales 50 % tendrá que presentar una progresión rectilínea. Una muestra que tenga una movilidad masal menor que 50 %, es una muestra que presenta astenospermia, y en caso que se este valor sea cercano al 100 % se trata de un caso denominado necrospermia (Mocé, 2003).

2.4. Factores que afectan el comportamiento reproductivo y la calidad del semen del conejo

En el conejo, se genera estrés cuando se expone a estímulos ambientales extremos de fotoperiodo, temperatura o alimentación, además de otros factores propios del animal como: genotipo, edad, peso y sanidad; dichos factores influyen en la modificación del comportamiento reproductivo (Alvariño, 2000; Amann &

Lambiase, 1967; Castellini, 2008; Theau-Clément, 2000). Las granjas comerciales y centros de inseminación artificial tienen como objetivo primordial generar una gran cantidad de dosis de semen, las cuales tienen que asegurar los mejores resultados a un costo bajo. El proceso normal de espermatogénesis, la función espermática y la fertilidad del macho, son modificados por factores ambientales, de manejo, fisiológicos y genéticos (Mocé, Lavara, Lavara, & Vicente, 2000; Rodríguez-De Lara et al., 2008).

2.5. Evaluación de la calidad del semen

El uso de análisis de calidad del semen se ha posicionado como una herramienta de gran utilidad, al intentar predecir el potencial fecundante contenido en una muestra de semen, además de que es complementario de una valoración macroscópica. Muchos investigadores de la reproducción animal están en la búsqueda de un diseño que permita realizar un “análisis seminal ideal”, el cual tendrá como objetivo predecir la fertilidad de una muestra de semen, además de que deberá ser preciso y sencillo (Montes, Torres, Rugeles, Almanza, & Guimarães, 2012).

Según Quintero (2004), el análisis seminal está conformado por un conjunto de pruebas, en las que se cuantifican múltiples aspectos y funciones del espermatozoide. Un análisis de rutina incluye: exámenes microscópico y macroscópico del eyaculado, en los cuales se evalúa: volumen, motilidad, pH, concentración aparente, presencia de gel y orina (Gadea, 2005).

2.5.1. Métodos de evaluación *in vivo*

Además de los métodos de laboratorio, se usan métodos *in vivo* que tienen por finalidad determinar la fertilidad de un semental; esta evaluación se hace con IA o monta natural, utilizando un determinado número de hembras fértiles. Una de las desventajas de este método, es que el tiempo que se necesita para obtener resultados fiables es mayor, en comparación con técnicas de laboratorio (Amann & Hammerstedt, 2002).

2.5.2. Métodos de evaluación *in vitro*

Las evaluaciones *in vitro* se utilizan con mayor frecuencia por la rapidez con la que se obtienen los resultados, además son de menor costo comparadas con los métodos *in vivo*. El valor de fertilidad obtenido mediante una evaluación *in vitro* es estimado, esto representa una desventaja en comparación con el método *in vivo*. Un examen seminal “ideal” debería de contar con características como: bajo costo, objetivo, preciso, repetible, rápido y sencillo. En la generación de dicho examen “ideal”, los científicos han desarrollado un conjunto pruebas que se han clasificado en: pruebas de rutina (espermiograma), sistema CASA, pruebas funcionales, pruebas que permitan evaluar la interacción entre gametos y la integridad de la cromatina (Amann & Hammerstedt, 2002).

2.6. Métodos de análisis seminal

2.6.1. Método convencional

Los métodos de análisis seminal convencional se utilizan comúnmente, debido a su rapidez con la que son evaluados los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen. En las características macroscópicas se incluyen: el pH, color, volumen, olor y la presencia de gel. En las variables microscópicas se incluye: la motilidad aparente, espermatozoides vivos-muertos, y anomalías de los espermatozoides (De Prado & Pérez, 1992).

Según Muiño et al. (2005), los métodos convencionales presentan inconvenientes, ya que son subjetivos y la experiencia del evaluador influye de manera directa en el resultado. En los exámenes seminales se evalúa la calidad, mediante un contraste de los parámetros observados en la muestra a evaluar, con los parámetros considerados normales.

2.6.2. Sistema de análisis seminal asistido por computadora (CASA)

Los análisis seminales por computadora tienen su origen hace 25 años (Hidalgo, Tamargo, & Díez, 2005), actualmente se emplean en los centros donde se llevan

a cabo esquemas de mejoramiento genético. Dicho sistema arroja de forma rápida y efectiva, valores cuantitativos de movimiento espermático individual, cuantifica la movilidad espermática porcentual, número de espermatozoides estáticos y progresivos, mide la velocidad de movimiento y plasma la trayectoria espermática individual. Además de cuantificar la movilidad, realiza diferenciaciones de las subpoblaciones en función del tipo de movimiento espermático. Este tipo de análisis presenta un costo elevado y necesita de personal altamente capacitado (Holt, Holt, Moore, Reed, & Curnock, 1997; Quintero et al., 2007).

En este sistema se registra una serie de imágenes de forma sucesiva de los espermatozoides en las cuales se muestra el movimiento de estos; posteriormente dichas imágenes se digitalizan. El sistema define las trayectorias de los espermatozoides, las que se analizan matemáticamente, generando así resultados numéricos precisos. El movimiento de cada espermatozoide es diferente y de estos se genera una serie de parámetros determinados como son: velocidad de movimiento, batido de cabeza y la frecuencia de los cambios de dirección (Quintero et al., 2007).

Con esta técnica de análisis se han evaluado los parámetros de movimiento y morfología espermática. Al conocer el valor de estos parámetros es posible determinar la calidad seminal y correlacionarla con la fertilidad (Verstegen, Iguer-Ouada, & Onclin, 2002). La precisión que presenta el sistema CASA supera las técnicas convencionales (Wilson-Leedy & Ingermann, 2007).

El CASA determina el número de espermatozoides totales, concentración espermática, movilidad y el vigor espermático (Galina & Valencia, 2012); únicamente se necesita de algoritmos y lenguajes de programación. Estos sistemas capturan de 50 a 60 fotogramas por segundo, conteniendo de 500 a más de 2,000 espermatozoides por fotograma (Amann & Waberski, 2014).

La evaluación de la integridad de la membrana plasmática permite obtener el número de espermatozoides vivos y muertos. Para evaluar las anomalías

morfológicas se emplean contrastes diferenciales, tinciones y microscopía electrónica. Últimamente se han comenzado a incluir técnicas como la citometría de flujo, microscopía fluorescente y fluorimetría (Galina & Valencia, 2012).

2.6.3. Factores que afectan la precisión

Los análisis seminales presentan resultados más precisos, siempre y cuando se realicen en conjunto con un análisis clásico. Algunos autores (Álvarez-Lledó, 2003; Rijsselaere et al. 2005; Tuli, Schmidt-Baulain, & Holtz, 1992) encontraron que en pruebas realizadas en humanos y distintas especies animales (porcina, bovina, caprina y canina), utilizando diversas técnicas (muestras diluidas y sin diluir, frescas y congeladas), los parámetros de movilidad total obtenidos mediante análisis clásicos y análisis computarizado son comparables, presentando coeficientes de correlación altos ($r=0.68$ a 0.98), siempre y cuando no se analice la asociación entre técnico y sistema automatizado, sino que se correlacionan factores biológicos con parámetros de calidad espermática.

2.7. Literatura citada

- Álvarez-Lledó, C. (2003). *Análisis integrado de morfología y movilidad espermática humana con el uso del Sperm Class Analyzer*. (Tesis de Doctorado. Universidad de Valencia, Valencia, España). Consultada en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=6904&iframe=true&width=80%&height=80%>.
- Alvariño, M. R. (1993). *Control de la reproducción en el conejo*, España: Mundi-Prensa.
- Alvariño, M. R. (2000, July). Reproductive performance of male rabbits. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. 13-35. Consultado en https://www.researchgate.net/publication/284264388_Reproductive_performance_of_male_rabbits.
- Amann, R. P., & Hammerstedt, R. H. (2002). Detection of differences in fertility. *Journal of Andrology*, 23 (3), 317-325. doi.org/10.1002/j.1939-4640.2002.tb02234.x.
- Amann, R. P., & Lambiase, J. T. (1967). The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. *Journal of Reproduction*, 14 (2), 329-332. doi.org/10.1530/jrf.0.0140329.
- Amann, R. P., & Waberski, D. (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 81 (1), 5-17. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.004.
- Aragónés, A. (2002). *Evaluación de la respuesta endosómica del semen de conejo*. (Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España). Citado en <https://riunet.upv.es/handle/10251/12203>.
- Arencibia, D., & Rosario, L. (2009). Consideraciones prácticas acerca de la calidad del semen de conejos aplicado en estudios de toxicología de la fertilidad. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 10 (8), 1-15. Consultado en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617143011>.
- Battaglini, M. (1982). L'insémination artificielle chez la lapine. *Cuniculture*, 7(38), 142-146. Citado en <https://polipapers.upv.es/index.php/wrs/article/view/441>.
- Becerra, J., Peña, A. I., Quintela, L. A., & Herradón, P. G. (2008). Effect of artificial photoperiod and light wavelength on rabbit sexual behaviour and semen characteristics. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 (4), 73.
- Bencheikh, N. (1995). Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoides récoltés chez le lapin.

In Annales de Zootechnie, 44 (3), 263-279. Consultado en <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00889183>.

Blumetto, O. (2007). Guía para el manejo de líneas genéticas de alto potencial en conejos para carne. Consultado en <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219210807173609.pdf>.

Brun, J. M., Theau-Clément, M., & Bolet, G. (2002). The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 70 (1-2), 139-149. doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00197-X.

Castellini, C. (2008, June). Semen production and management of rabbits bucks. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*, Verona, Italy.

De Prado, M. D. E., & Roy Pérez, T. D. J. (1992). Análisis del semen del conejo. *Boletín de Cunicultura*, 59, 49-55. Consultado en <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2869103.pdf>.

Fusi, A. (1994). El comportamiento sexual del conejo. *Cunicultura*, 19 (111), 297-299. Consultado en https://ddd.uab.cat/pub/cunicultura/cunicultura_a1994m10v19n111/cunicultura_a1994m10v19n111p297.pdf.

Galina, C., & Valencia, J. (2012). *Reproducción de Animales Domésticos*. (3^a ed.). México: Limusa.

Gadea, J. (2005). Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*, 63 (2), 431-444. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.023.

González-Urdiales R. (2002). Contrastación seminal. *Cunicultura*, 160, 394-399.

Hidalgo, C., Tamargo, C., & Díez, C. (2005). Análisis del semen bovino. *Tecnología Agroalimentaria*, 2, 39-43.

Holt, C., Holt, W.V., Moore, H.D., Reed, H.C., & Curnock, R.M. (1997). Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: results of two fertility trials. *Journal of Andrology*, 18 (3), 312-323. doi.org/10.1002/j.1939-4640.1997.tb01925.x.

Kuzminsky, G., Fausto A., & Morera, P. (1996). Morphological abnormalities of rabbit spermatozoa studied by scanning electron microscope and quantified by light microscope. *Reproduction Nutrition Development*, 36 (5), 565-575. doi.org/10.1051/rnd:19960512.

Lavara, R., Mocé, E., Lavara, F., de Castro, M., & Vicente, J. (2005). Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm

- inseminations in rabbits?. *Theriogenology*, 64 (5), 1130-1141. doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.01.009.
- Luzi, F., Barbieri, S., Lazzaroni, C., Cavani, C., Zecchini, M., & Crimella, C. (2010). Effets de l'addition de propylène glycol dans l'eau de boisson sur les performances de reproduction des lapines. *World Rabbit Science*, 9(1), 15-18. doi.org/10.4995/wrs.2001.441.
- Marai, I.F.M., Habeeb, A.A.M., & Gad, A.E. (2002). Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science*, 78 (2), 71-90. doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00091-X.
- Mocé, E. (2003). *Estudio de diversos factores que afectan a la capacidad fecundante del semen de conejos congelado en un medio con DMSO y sacarosa*. (Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España). Consultada en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=217251>.
- Mocé, E., Lavara, R., Lavara, F., & Vicente, J. S. (2000, July). Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. 197-201.
- Montes, J., Torres, M., Rugeles, C., Almanza, R., & Guimarães, J. (2012). Inducción in vitro de la reacción acrosómica con heparina en semen congelado de toros Brahman y Gyr. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15 (2), 431-436.
- Muiño, R., Fernández, M., Areán, H., Viana, J. L., López, M., Fernández, A. I., & Peña, A. I. (2005). Nuevas tecnologías aplicadas al procesado y evaluación del semen bovino en centros de inseminación artificial. *ITEA*, 101, 175-191.
- Quintero, M. A. (2004). *Estudio sobre la dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, cerdo y conejo*. (Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España). Consultada en <https://ddd.uab.cat/pub/tesis/2003/tdx-0220104-144916/aqm1de1.pdf>.
- Quintero-Moreno, A., Rigau, T., & Rodríguez-Gil, J. E. (2007). Multivariate cluster analysis regression procedures as tools to identify motile sperm subpopulations in rabbit semen and to predict semen fertility and litter size. *Reproduction in Domestic Animals*, 42, 312-319. doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00785.x.
- Rijsselaere, T., Van Soom, A., Tanghe, S., Coryn, M., Maes, D., & de Kruif, A. (2005). New techniques for the assessment of canine semen quality: A

review. *Theriogenology*, 64 (3), 706-719.
doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.021.

- Rodríguez-De Lara, R. (1996, Mayo). Recomendación práctica de una técnica de inseminación artificial aplicada a granjas comerciales. In *XXI Symposium de Cunicultura*. Amposta, España, 4. Consultado en <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/2882109.pdf>.
- Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., Rangel-Santos, R., Mariscal-Aguayo, V., Martínez-Hernández, P. A., & García-Muñiz, J.G. (2008, June). Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*. Verona, Italy. 443-448.
- Roca, J., Martínez, S., Orengo, J., Parrilla, I., Vázquez, J. M., & Martínez, E. A. (2005). Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livestock Production Science*, 94 (3), 169-177. doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.10.011.
- Theau-Clément, M. (2000). Advances in biostimulation methods applied to rabbit reproduction. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. 61-79.
- Theau-Clément, M., & Vrillon, J. L. (1989). Le point sur l'insémination artificielle. Bibliographie: quelques résultats. *Cuniculture*, 87, 141-149.
- Tuli, R. K., Schmidt-Baulain, R., & Holtz, W. (1992). Computer-assisted motility assessment of spermatozoa from fresh and frozen-thawed semen of the bull, boar and goat. *Theriogenology*, 38 (3), 487-490. doi.org/10.1016/0093-691X(92)90068-3.
- Vega, F. (2010). *Optimización del uso de la inseminación artificial en cunicultura* (Tesis de Doctorado. Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España). Consultada en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=139179>.
- Verstegen, J., Iguer-Ouada M., & Onclin K. (2002). Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology* 57 (1),149-179. doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00664-1.
- Wilson-Leedy, J. G., & Ingermann, R. L. (2007). Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology* 67 (3), 661-672. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.10.003.

3. COMPORTAMIENTO SEXUAL Y CALIDAD SEMINAL DE TRES GENOTIPOS DE CONEJOS DURANTE EL OTOÑO

3.1. Resumen

El objetivo fue evaluar el comportamiento sexual, calidad seminal y espermática de conejos Nueva Zelanda Blanco (NZB), California (CA) e híbridos (HI) provenientes del cruzamiento entre estas dos razas. Se utilizaron 36 conejos de 6 meses de edad y peso promedio de 3300 g, 12 conejos NZB, 12 CA, y 12 HI. El diseño experimental fue completamente al azar con tres genotipos y 12 réplicas por genotipo, la unidad experimental fue el conejo. Las colecciones de semen se realizaron en 11 sesiones durante el otoño, obteniéndose dos eyaculados por conejo por sesión. Las características espermáticas se evaluaron con un sistema computarizado asistido para análisis de semen (CASA). No se encontraron efectos ($p > 0.05$) de genotipo en comportamiento sexual, volumen seminal, pH, porcentaje de espermatozoides estáticos, motilidad total y progresiva, pero este factor influyó ($p < 0.05$) en la concentración espermática por eyaculado ($p < 0.05$). Los conejos HI produjeron 76.7 y 67.7 millones más de espermatozoides por eyaculado que los CA y NZB. La viabilidad, normalidad espermática, presencia de colas dobladas, colas enrolladas, gotas distales, gotas proximales, espermatozoides viables normales progresivos motiles por eyaculado y número de dosis para inseminación artificial (IA) no fueron influenciados por genotipo ($p > 0.05$). El orden de eyaculado afectó la presencia de gel ($p < 0.01$), volumen seminal ($p < 0.01$), concentración espermática por eyaculado ($p < 0.04$) y la motilidad progresiva ($p < 0.01$). Los primeros eyaculados fueron superiores para presencia de gel, volumen y motilidad progresiva (+153.3, 65.1 y 7.4 %, respectivamente), que los segundos. Mientras que el número de espermatozoides por eyaculado fue mayor en la segunda colección (+26.2 millones) que en la primera. Las razas puras y el híbrido mostraron ciertas diferencias y tendencias en algunas de las características seminales y espermáticas, pero el número de dosis fue similar. De los primeros eyaculados se obtiene mayor cantidad de dosis que de los segundos.

Palabras Clave: comportamiento reproductivo, genotipos, conejos machos, tiempo de reacción. ¹

¹ Tesis de Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Marco Antonio Arzate Ramírez
Director de Tesis: Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara

SEXUAL BEHAVIOR AND SEMEN QUALITY OF THREE GENOTYPES OF RABBITS DURING AUTUMN

3.2. Abstract

The study aimed to evaluate sexual behavior, semen and sperm quality in New Zealand White (NZW), California (CA) and hybrid rabbits (HB) from a crossbreeding between these breeds. Six month old pubertal male rabbits (n=36) weighing 3300 g were used, 12 NZW, 12 CA, and 12 HB. The experimental design was completely randomized with three genotypes and twelve replicates per genotype. The experimental unit was one buck. Semen collections were carried out during 11 sessions in autumn, two ejaculates per buck per session. Sperm characteristics were evaluated with a computer assisted semen analyzer (CASA). There was no effect ($p>0.05$) of genotype on sexual behavior, seminal volume, pH, percentage of static sperms, total and progressive sperm motility. But this factor influenced ($p>0.05$) sperm concentration per ejaculate. HB rabbits produced 76.7 and 67.7 million more sperms per ejaculate than CA and NZW. Sperm viability and normality, presence of bent tails, coiled tails, distal droplet, proximal droplet, viable normal progressive motile sperms per ejaculate and seminal doses for artificial insemination (AI) were not influenced ($p<0.05$) by genotype. Ejaculation order affected the presence of gel ($p<0.01$), seminal volume ($p<0.01$), sperm concentration per ejaculate ($p<0.04$) and progressive sperm motility ($p<0.01$). First ejaculates were superior to the presence of gel, seminal volume and progressive motility (+153.3, 65.1, and 7.4 %, respectively), than second ejaculates. Meanwhile, the number of sperms per ejaculate was higher in the second than in the first ejaculate (+26.2 millions). Purebred and hybrid rabbits showed some differences and trends for some seminal and sperm characteristics, but number of doses were similar. From first ejaculates greater numbers of doses are obtained than from the second ones.

Keywords: reproductive behavior, genotypes, male rabbits, reaction time.²

² Master of Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Marco Antonio Arzate Ramírez
Advisor: Ph.D. Raymundo Rodríguez de Lara

3.3. Introducción

La inseminación artificial (IA) es una herramienta útil en los sistemas de producción cunícola para mejorar la eficiencia y disminuir los costos. Sin embargo, para obtener beneficios de este programa se requiere de un óptimo comportamiento sexual y una buena calidad seminal de los reproductores a lo largo del año. El objetivo primordial de las granjas comerciales y centros de IA es generar la mayor cantidad de dosis seminales de alta calidad, que garanticen niveles adecuados de fertilidad y prolificidad en las conejas inseminadas artificialmente, durante todo el año.

En este sentido, la evaluación del comportamiento sexual y la calidad seminal es fundamental para seleccionar los mejores conejos y monitorear su capacidad reproductiva. En programas de IA, esta capacidad reproductiva individual está determinada por el número de dosis potenciales, el cual depende del número de espermatozoides vivos normales progresivos motiles obtenidos en cada eyaculado.

Los factores fisiológicos, ambientales y de manejo que afectan el comportamiento reproductivo en conejos machos se han estudiado ampliamente (Alvariño, 2000; Amann & Lambiase, 1967; Castellini, 2008; Mocé, Aroca, Lavara, & Pascual, 2000; Rodríguez-De Lara et al., 2008; Theau-Clément, Bolet, Sánchez, Saleil, & Brun, 2015). Sin embargo, son escasos los estudios de cómo los factores genéticos afectan el comportamiento sexual y la calidad seminal; además, los estudios han sido enfocados principalmente en comparar razas puras y en algunos casos incluyendo conejos híbridos (Abo, Kosba, Hamdy, & Soliman, 1985; Brun, Theau-Clément, & Bolet, 2002; El-Tarabany, El-Bayomi, & Abdelhamid, 2015; García, Sánchez, Rafel, Ramón, & Piles, 2006).

El uso de machos híbridos, en lugar de machos de raza pura, potencialmente permite el aprovechamiento de heterosis en el comportamiento sexual y en los parámetros seminales. Existe poca información sobre los efectos de heterosis en características de calidad seminal en animales domésticos y mucho menos de su

comportamiento sexual. El uso de sementales híbridos ha mejorado el volumen y la calidad seminal en cerdos (Buchanan, 1987). En bovinos Thrift y Aaron (1987) reportaron efectos de heterosis para la concentración espermática, mientras que Kroetz, Tahira, Perotto y Moletta (2000) para la motilidad masal, el vigor y la concentración espermática.

Brun et al. (2002), al estudiar cuatro genotipos de conejos, dos estirpes (INRA 1601 y INRA 2066) y sus cruces recíprocos, encontraron diferencias en el volumen seminal y en el porcentaje de espermatozoides motiles entre las dos estirpes y mostraron el efecto de heterosis para la concentración, el número total de espermatozoides por eyaculado, la motilidad masal y la motilidad progresiva.

En conejos, El-Tarabany et al. (2015) reportaron efectos de heterosis para volumen seminal, motilidad, concentración y porcentaje de espermatozoides vivos; esta superioridad fue evidente en machos provenientes del cruzamiento entre Nueva Zelanda Blanco como raza materna y Flandes como paterna, los cuales mostraron heterosis y efectos maternos favorables en conejas Flandes.

En México, las razas de conejos más diseminadas son Nueva Zelanda Blanco y California, pero no se encontraron estudios reproductivos comparativos entre estas razas con un híbrido, no se tienen antecedentes que en México se haya utilizado un sistema asistido computarizado de análisis de semen (CASA) para la valoración de las características espermáticas de estos genotipos. La aplicación de rigurosos exámenes para evaluar los parámetros de calidad de las muestras de semen, tiene como finalidad primordial elevar los parámetros reproductivos y asegurar la permanencia de sementales con las mejores características seminales (Roca et al., 2000).

Con base en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el comportamiento sexual, y las características seminales y espermáticas en conejos Nueva Zelanda Blanco, California e híbrido proveniente del cruce simple entre las dos razas durante el otoño.

3.4. Materiales y métodos

3.4.1. Localización

El estudio se realizó de junio a noviembre de 2018, en las instalaciones de “Conejos” Centro de Investigación Científica del Estado de México A.C., ubicado en San Miguel Coatlinchan, Estado de México, con coordenadas 19' 27" N, 98' 53" O y 2220 msnm; temperatura media anual de 15.9 °C y precipitación media anual de 645 mm (SMN, 2018).

3.4.2. Animales y diseño experimental

Se emplearon 36 conejos de 6 meses de edad y peso promedio de 3300 g, 12 Nueva Zelanda Blanco (NZB), 12 California (CA) y 12 híbridos (HI) del cruce de conejos California como padres y Nueva Zelanda Blanco como madres. El diseño experimental fue completamente al azar, los tres genotipos se consideraron como tratamientos, 12 réplicas por genotipo, la unidad experimental fue un conejo.

3.4.3. Medio ambiente e instalaciones

Los conejos se alojaron en un módulo de ambiente natural provisto de aislamiento térmico en el techo y las paredes, con ventanas laterales regulables. Se mantuvieron en jaulas metálicas galvanizadas individuales de 30×60×40 cm, dispuestas en un sistema flat-deck o en línea. Cada jaula estaba provista con un comedero de tolva tipo inglés con capacidad de 1.5 kg y un bebedero automático tipo tetina.

3.4.4. Nutrición y alimentación

Se les proporcionó en promedio 180 g día⁻¹ de alimento comercial en pellets (Conejo reproductor, Tepexpan®) con 17.4 % de proteína cruda, 5.3 % de grasa, 15.0 % de fibra cruda, 8.0 % de cenizas, 44.2 de extracto libre de nitrógeno, 1.2 % calcio, 0.7 % fósforo, 2608 kcal de energía digestible kg⁻¹ y 10.1 % de humedad.

3.4.5. Protocolo de colección y análisis de semen

Las extracciones de semen se iniciaron a las 08:00 h una vez por semana y a cada macho se le extrajo dos eyaculados por sesión. Las extracciones de semen se realizaron empleando el método de Walton (1945), utilizando una vagina artificial que contenía en su interior agua a 45 °C y una coneja de apoyo.

El comportamiento sexual o libido se determinó con un cronómetro, para cuantificar el tiempo entre la introducción de la hembra de apoyo y la vagina artificial a la jaula del macho hasta que éste eyaculaba, esto se consideró como tiempo de reacción. Una vez obtenido el eyaculado, se colocó en baño María a 32 °C hasta su evaluación. Cuando las muestras presentaron gel, éste se removió del tubo colector. El volumen se midió directamente en los tubos colectores graduados cada 0.2 mL.

El pH del semen se determinó con tiras reactivas de papel indicador de pH; los valores en este papel oscilan entre 1 y 12, en intervalos de 1 grado (Dual Tint®). A continuación, cada muestra se diluyó 1:5, se tomó una alícuota de 50 µL de semen, y se mezcló con 250 µL de solución buffer salina fosfatada (Dulbecco A; Oxoid Inc., UK). La dilución se adecuó si la concentración era muy baja o muy alta, de manera que cumpliera con los estándares del CASA. Se hizo una segunda dilución con una tinción Viadent (Hoechst 33258) 1:1, para lo cual se tomó 100 µL de la dilución anterior y se colocó junto con 100 µL de Viadent. La tinción Viadent contiene bisBenzimida Triclorhidrato y utiliza luz fluorescente para determinar el número de células no viables, ya que sólo se tiñen las células que no tienen las membranas intactas.

Se tomó una alícuota (± 3 µL) de la última dilución y se sometió al sistema de análisis de semen computarizado (CASA IVOS II, v 1.7, Hamilton Thorne Research, Beverly, MA) para evaluación espermática. Para dicho análisis, las muestras se incubaron por 2 min a 37 °C dentro del IVOS II en una Leja (porta objeto de profundidad fija desechable) de 20 micrones de profundidad.

3.4.6. Variables de respuesta

Las variables de respuesta relacionadas con el comportamiento sexual y con las características seminales y espermáticas fueron: tiempo de reacción (s), presencia de gel (%), volumen seminal (mL), pH, concentración espermática por mL⁻¹ (10⁶), espermatozoides estáticos (%), motilidad total y progresiva (%), viabilidad espermática (%), espermatozoides con colas dobladas (%), enrolladas (%), espermatozoides con gotas distales (%), proximales (%), número de espermatozoides viables normales motiles progresivos por eyaculado y número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial. La concentración de espermatozoides vivos normales motiles progresivos por eyaculado se determinó al multiplicar número de espermatozoides por eyaculado, por el porcentaje de motilidad progresiva por el porcentaje de viabilidad, menos el porcentaje de espermatozoides anormales. El número potencial de dosis para inseminación artificial se obtuvo dividiendo esta última variable entre 5000.

3.4.7. Análisis estadístico

El tiempo de reacción, las características seminales y de los espermatozoides, se sometieron a un análisis de varianza considerando el siguiente modelo.

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + E_j + M_k + (R * E)_{ij} + b_1(X_{ijk} - \mu) + b_2(X_{ijk} - \mu) + \varepsilon_{ijk}$$

donde Y_{ijk} , es la variable respuesta; μ , es la media general; G_i , es el efecto fijo de la i -ésimo genotipo (i = Nueva Zelanda Blanco, California, Híbrido); E_j , es el efecto fijo del j -ésimo eyaculado (j = primero, segundo); M_k , es el efecto aleatorio del k -ésimo macho ($k=1, \dots, 36$), (6 machos fueron descartados del análisis) $\sim NI(0, \sigma^2_m)$; $(G * E)_{ij}$ es la interacción entre genotipo y orden de eyaculado; b_1 es el coeficiente de regresión lineal de la covariable peso del conejo al momento de la colección de semen; b_2 es el coeficiente de regresión lineal de la covariable sesión de colección de semen y ε_{ijk} , es el residual $\sim NI(0, \sigma^2_e)$.

Las variables en porcentaje se transformaron utilizando arco seno; el tiempo de reacción y las concentraciones espermáticas mediante log 10. Todos los análisis de varianza se hicieron con los datos originales y transformados. Las covariables no significativas ($p > 0.05$) se eliminaron del modelo y la información se analizó nuevamente. Los análisis de varianza dieron los mismos patrones de respuesta con los datos transformados y originales. Los resultados del análisis de varianza se presentaron con la información original.

Las variables de respuesta se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (2016). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey.

3.5. Resultados y discusión

De los 36 conejos que iniciaron el experimento, tres murieron por causas de problemas respiratorios, además se descartó la información de tres conejos por falta de libido y consistente presentación de orina en el semen. Al final del experimento se evaluó el comportamiento reproductivo de 10 conejos por genotipo.

3.5.1. Estadísticos descriptivos de comportamiento reproductivo de conejos

Se generaron y analizaron 559 registros. El peso promedio de los conejos evaluados al momento de la colección de semen fue 3570 g. En el Cuadro 1 se presentan los estadísticos descriptivos del peso de los conejos al momento de la colección de semen, el comportamiento sexual, las características seminales y espermáticas, y el número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial.

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos y coeficientes de variación para peso de los machos al momento de la colección de semen, comportamiento sexual, características seminales, espermáticas y dosis potenciales para inseminación artificial.

Variable	N ^z	Min	Max	Media	DE	CV
Peso (Kg)	559	2.77	5.15	3.57	0.28	7.82
Tiempo de reacción (s)	559	1.7	108.8	6.26	11.4	96.0
Características seminales						
Presencia de gel (%)	559	0.0	1.0	0.3	0.5	146.2
Volumen (mL)	559	0.1	2.0	0.57	0.31	54.28
pH	559	7.00	9.00	7.06	0.25	3.61
Características espermáticas						
Concentración por eyaculado (10 ⁶ mL ⁻¹)	559	0.8	1468.0	177.0	159.1	89.9
Estáticos (%)	559	2.00	96.50	16.49	14.89	90.27
Motilidad total (%)	559	3.5	98.00	83.51	14.89	17.82
Motilidad progresiva (%)	559	0.0	86.20	48.61	19.34	39.79
Viabilidad (%)	559	53.90	99.9	94.24	6.10	6.48
Normales (%)	559	52.00	99.9	93.77	6.88	7.33
Cola doblada (%)	559	0.0	18.5	3.02	2.78	92.18
Cola enrollada (%)	559	0.0	19.6	1.96	2.16	109.76
Gota distal (%)	559	0.2	40.0	7.63	6.20	81.26
Gota proximal (%)	559	0.0	3.90	0.54	0.54	99.88
No. viables normales progresivos motiles por eyaculado (10 ⁶)	559	0.0	482.4	63.9	68.4	107.0
Número de dosis	559	0.0	96.5	12.8	13.7	107.0

^z N= número de observaciones; Min= mínimo; Max=máximo; DE= Desviación estándar; CV= Coeficiente de variación.

La covariable peso del conejo al momento de la colección de semen fue significativa ($p < 0.05$) para tiempo de reacción y presencia de gel; y la covariable sesión fue significativa ($p < 0.05$) para tiempo de reacción, concentración por eyaculado, motilidad progresiva, porcentaje de espermatozoides con colas dobladas, número de espermatozoides vivos normales motiles progresivos por eyaculado y número de dosis para inseminación artificial. Las variables influenciadas por las covariables peso y sesión se ajustaron a un peso estándar de 3569 g y a una sesión estándar de 6.025.

3.5.1. Comportamiento sexual, características seminales y espermáticas de los conejos

En el Cuadro 2 se presentan las medias de cuadrados mínimos para el comportamiento sexual, características seminales y espermáticas de los conejos. El efecto de genotipo no fue significativo ($p > 0.05$) para tiempo de reacción, volumen seminal, porcentaje de espermatozoides estáticos y motilidad total, pero este factor influyó ($p < 0.05$) en el número de espermatozoides por eyaculado. La presencia de gel, pH seminal y la motilidad progresiva, tendieron a ser diferentes entre genotipos ($p < 0.10$). Los conejos híbridos (HI) produjeron en promedio 76.7 y 67.7 millones más de espermatozoides/eyaculado que los California (CA) y Nueva Zelanda Blanco (NZB), lo que representó un incremento del 40.1 y 33.8 %, respectivamente.

Cuadro 2. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) y comparación múltiple para las subclases genotipo y orden de eyaculado en el comportamiento sexual, y en las características seminales y espermáticas de conejos.

Comportamiento sexual	Genotipo ^z			Orden de eyaculado	
	NZB N = 175	CA N = 206	HI N = 178	Primero N = 268	Segundo N = 291
Tiempo de reacción (s) ^y ^x	6.3 \pm 0.11a ^w	6.22 \pm 0.10a	6.24 \pm 0.11a	6.24 \pm 0.09a	6.28 \pm 0.09a
Características seminales					
Presencia de gel (%) ^y	0.17 \pm 0.05a	0.32 \pm 0.05a	0.29 \pm 0.05a	0.38 \pm 0.04b	0.15 \pm 0.03a
Volumen (mL)	0.54 \pm 0.05a	0.63 \pm 0.05a	0.53 \pm 0.05a	0.71 \pm 0.03b	0.43 \pm 0.03a
pH	7.10 \pm 0.02a	7.03 \pm 0.02a	7.05 \pm 0.02a	7.07 \pm 0.02a	7.05 \pm 0.02a
Características espermáticas					
Concentración por eyaculado (10 ⁶ mL ⁻¹) ^x	200.2 \pm 24.35a	191.2 \pm 22.04a	267.9 \pm 23.92b	206.75 \pm 15.17a	232.91 \pm 14.87b
Estáticos (%)	14.1 \pm 3.40a	17.3 \pm 3.03a	21.0 \pm 3.30a	17.3 \pm 1.98a	17.6 \pm 1.96a
Motilidad total (%)	85.9 \pm 3.40a	82.7 \pm 3.02a	79.0 \pm 3.30a	82.7 \pm 3.02a	82.4 \pm 1.96a
Motilidad progresiva (%) ^x	53.1 \pm 4.68a	50.8 \pm 4.13a	39.2 \pm 4.49a	49.4 \pm 2.70a	46.0 \pm 2.68a

^z NZB= Nueva Zelanda Blanco; CA= California; HI= cruce de CA x NZB; N=Número de observaciones.

^y Peso al momento de la colección de semen usada como covariable.

^x Orden de sesión progresiva usada como covariable.

^w Medias seguidas con diferente letra en cada hilera, dentro de genotipo indican que son diferentes (p<0.05).

El pH de los eyaculados de conejos NZB tendió a la acidez, mientras que los de CA e HI hacia la alcalinidad. Asimismo, estos dos últimos genotipos tendieron a presentar mayor porcentaje de eyaculados con presencia de gel, que NZB. La motilidad progresiva mostró cierta tendencia a ser inferior en conejos HI en un 29.6 y 35.4 % comparados con aquellos CA y NZB, respectivamente.

El tiempo de reacción, el pH seminal, el porcentaje de espermatozoides estáticos y la motilidad total no fueron influenciados ($p > 0.05$) por el orden del eyaculado. Sin embargo, este factor influyó en la presencia de gel ($p < 0.01$), volumen seminal ($p < 0.01$), concentración espermática por eyaculado ($p < 0.04$) y motilidad progresiva ($p < 0.01$).

Los primeros eyaculados fueron superiores que los segundos para la presencia de gel, volumen seminal y motilidad progresiva en 153.3, 65.1 y 7.4 %, respectivamente. Mientras que el número de espermatozoides por eyaculado fue mayor en la segunda colección (+26.2 millones) que la primera, lo que corresponde a una superioridad del 12.6 %.

3.5.2. Viabilidad, normalidad, anormalidades espermáticas y dosis potenciales para uso en inseminación artificial.

En el Cuadro 3 se muestran los efectos de genotipo y orden de eyaculado en el porcentaje de espermatozoides viables, normales y anormales, y en las dosis potenciales para uso en inseminación artificial. No se encontraron efectos significativos de genotipo ($p > 0.05$) en estas características de calidad espermática y número de dosis. Se encontraron tendencias de genotipo en el porcentaje de espermatozoides normales ($p < 0.07$), con colas enrolladas ($p < 0.12$), con presencia de gotas distales ($p < 0.09$) y gotas proximales ($p < 0.14$).

Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) y comparación múltiple para las subclases de genotipo y orden de eyaculado en la viabilidad, morfología espermática y dosis potenciales para inseminación artificial en conejos.

	Genotipo ^z			Orden de eyaculado	
	NZB N ^y = 175	CA N = 206	HI N = 178	Primero N = 268	Segundo N = 291
Calidad espermática					
Viabilidad (%)	94.7 \pm 1.34a ^x	94.7 \pm 1.19a	92.4 \pm 1.30a	93.7 \pm 0.78a	94.2 \pm 0.77a
Normales (%)	94.8 \pm 1.33a	94.6 \pm 1.19a	91.0 \pm 1.29a	93.2 \pm 0.78a	93.7 \pm 0.77a
Cola doblada (%) ^y	2.64 \pm 0.53a	3.09 \pm 0.47a	3.67 \pm 0.51a	2.84 \pm 0.31a	3.42 \pm 0.31b
Cola enrollada (%)	1.38 \pm 0.35a	2.03 \pm 0.31a	2.55 \pm 0.34a	1.83 \pm 0.21a	2.21 \pm 0.21b
Gota distal (%)	6.54 \pm 1.41a	7.04 \pm 1.25a	10.5 \pm 1.36a	8.32 \pm 0.82a	7.75 \pm 0.81a
Gota proximal (%)	0.42 \pm 0.08a	0.57 \pm 0.08a	0.67 \pm 0.08a	0.57 \pm 0.05a	0.53 \pm 0.05a
Número de viables normales progresivos motiles por eyaculado (10 ⁶) ^y	54.9 \pm 9.97a	65.6 \pm 9.03a	67.9 \pm 9.80a	75.3 \pm 6.23b	50.3 \pm 6.10a
Número de dosis ^y	11.0 \pm 1.99a	13.1 \pm 1.81a	13.6 \pm 1.96a	15.0 \pm 1.24b	10.0 \pm 1.22a

^z NZB= Nueva Zelanda Blanco; CA= California; HI= cruza de CA x NZB; N=Número de observaciones.

^y Orden de sesión progresiva usada como covariable.

^x Medias seguidas con diferente letra en cada hilera, dentro de genotipo indican que son diferentes ($p < 0.05$).

El porcentaje de espermatozoides normales tendió a ser menor en conejos HI en 3.9 y 4.2 % comparados con las razas CA y NZB. Asimismo, los conejos híbridos tendieron a presentar mayores porcentajes de espermatozoides con colas enrolladas, comparados con conejos CA y NZB (+25.6 y 84.8 %), esta tendencia también se observó para el porcentaje de espermatozoides con gotas distales, donde los conejos híbridos mostraron valores superiores con respecto a las razas puras (+49.1 y 60.5 %). Similarmente, los porcentajes de espermatozoides con gotas proximales tendieron a ser mayores en conejos HI, comparados con machos CA y NZB en 17.5 y 59.5 %, respectivamente. No obstante, los conejos HI produjeron 2.3 y 13.0 millones más de espermatozoides vivos normales progresivos motiles por eyaculado, que los CA y NZB, equivalente a 3.5 y 23.7 % de incremento, pero no se observaron diferencias para este parámetro y dosis seminales potenciales para uso en inseminación artificial ($p>0.05$). Los conejos HI produjeron en promedio 0.5 y 2.6 más dosis que conejos CA y NZB.

El orden de eyaculado constituyó un factor importante, afectando los porcentajes de espermatozoides con colas dobladas ($p<0.01$), colas enrolladas ($p<0.02$), número de espermatozoides viables normales progresivos motiles por eyaculado ($p<0.01$) y el número de dosis potenciales para inseminación artificial ($p<0.01$). Se observaron ciertas tendencias se observaron para porcentajes de espermatozoides con presencia de gotas distales ($p<0.16$) y gotas proximales ($p<0.14$). Los porcentajes de colas dobladas y colas enrolladas fueron mayores en los segundos eyaculados que los primeros (+20.4 y 20.8 %). Mientras que los primeros eyaculados produjeron en promedio 25 millones más de espermatozoides normales viables progresivos motiles por eyaculado y 5 dosis más para inseminación que los segundos, lo que representa un incremento de 49.7 %. El porcentaje de espermatozoides con gotas distales y proximales tendieron a ser mayores en el primer eyaculado que el segundo en 7.4 y 7.5 %, respectivamente.

El porcentaje de presencia de gel en los eyaculados, volumen seminal y la proporción de espermatozoides con colas enrolladas fueron influenciados

($p < 0.05$) por la interacción entre genotipo y orden de eyaculado como se muestra en el Cuadro 4 y en las Figuras 1, 2 y 3. La proporción de muestras con presencia de gel siempre fue superior en el primer eyaculado que el segundo. Sin embargo, se observó para el caso de conejos CA e HI, que la incidencia de presencia de gel en el primer eyaculado fue significativamente ($p < 0.05$) superior que el segundo en un 511.0 y 80.9 %, respectivamente, mientras que en conejos NZB las diferencias entre primer y segundo fueron mínimas ($p > 0.05$; + 35.7 %). No hubo diferencias dentro de los primeros eyaculados para los tres genotipos ($p > 0.05$), pero dentro de los segundos eyaculados las diferencias fueron significativas ($p < 0.05$).

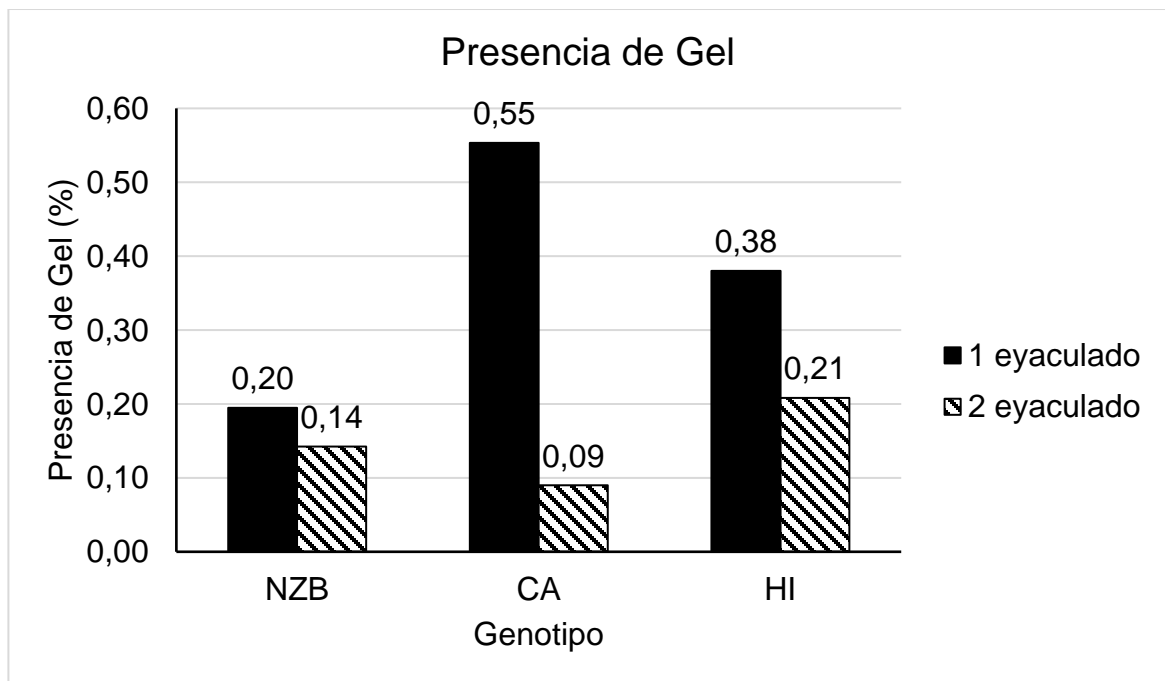


Figura 1. Efecto del genotipo en el porcentaje de eyaculados con presencia de gel, en relación con el orden de eyaculado en conejos.

Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar) y comparación múltiple para las subclases de la interacción genotipo x orden de eyaculado para presencia de gel, volumen seminal y porcentaje de espermatozoides con colas enrolladas en conejos.

Variable	Nueva Zelanda Blanco		California		Híbrido	
	Primero N ^z = 83	Segundo N = 92	Primero N = 100	Segundo N = 106	Primero N = 85	Segundo N = 93
Presencia de gel (%)	0.19 \pm 0.06c ^y	0.14 \pm 0.06c	0.55 \pm 0.06a	0.09 \pm 0.06c	0.38 \pm 0.06b	0.21 \pm 0.06c
Volumen (mL)	0.69 \pm 0.05ab	0.39 \pm 0.05c	0.79 \pm 0.05a	0.46 \pm 0.05c	0.63 \pm 0.05b	0.43 \pm 0.05c
Espermatozoides con cola enrollada (%)	1.39 \pm 0.38a	1.58 \pm 0.37a	2.02 \pm 0.34a	2.04 \pm 0.34a	2.07 \pm 0.37a	3.02 \pm 0.37b

^zN=Número de observaciones

^y Medias seguidas con diferente letra en cada hilera, dentro de cada genotipo indican que son diferentes ($p < 0.05$).

Los volúmenes de los primeros eyaculados de los conejos NZB, CA e HI fueron superiores ($p < 0.05$) que de los segundos en 76.9, 71.7 y 46.5 %, respectivamente (Figura 2). Asimismo, el volumen del primer eyaculado de conejos CA fue superior que el primero de conejos NZB (+ 14.5 %; $p > 0.05$) y también superior (+25.4 %; $p < 0.05$) que conejos HI para este mismo orden de eyaculación. No se observaron diferencias entre HI y California para el primer eyaculado ($p > 0.05$).

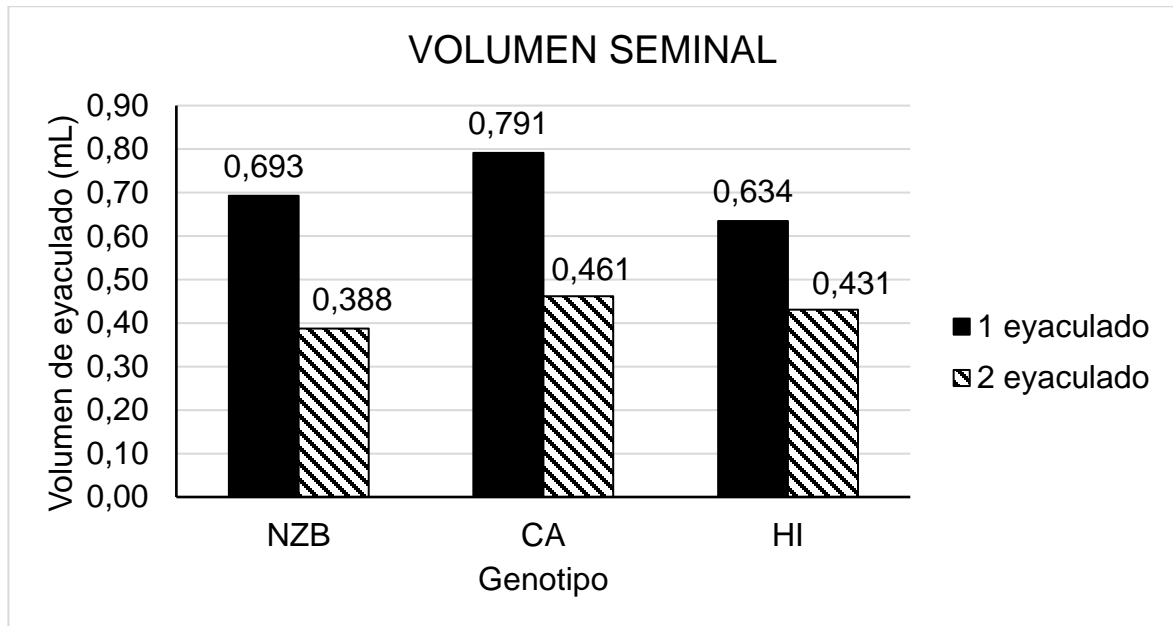


Figura 2. Efecto del genotipo en el volumen seminal en relación con el orden de eyaculado en conejos.

La presencia de colas enrolladas en conejos NZB y CAL no fue diferente entre el primer y segundo eyaculado. Sin embargo, el porcentaje de espermatozoides con esta anomalía en conejos HI fue significativamente ($p < 0.05$) mayor en el segundo eyaculado que el primero (+45.7 %) y los valores de esta anomalía para este orden de eyaculado siempre fueron muy superiores que los primeros y segundos eyaculados de las dos razas estudiadas (Figura 3).

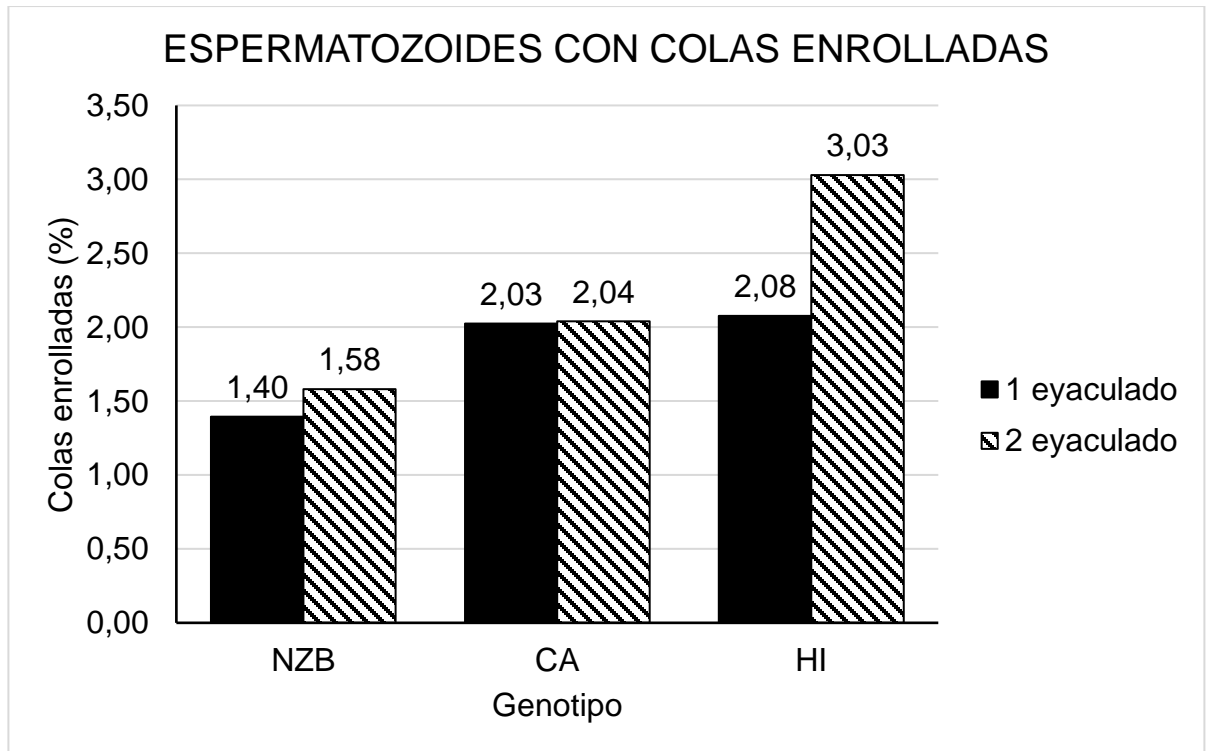


Figura 3. Efecto del genotipo en el porcentaje de espermatozoides con colas enrolladas, en relación con el orden de eyaculado en conejos.

Los resultados en el comportamiento sexual y en la calidad seminal obtenidos en el presente estudio corresponden a conejos jóvenes puberales evaluados durante el otoño. Por lo que es probable que el comportamiento reproductivo de los tres genotipos haya sido influenciado por la estación. Estudios en conejos puberales Nueva Zelanda Blanco en condiciones ambientales similares demostraron que la calidad seminal y espermática de los eyaculados colectados en invierno son mejores que los de otoño (Fallas, 2010). La disminución en la calidad seminal de otoño ha sido explicada como resultado de elevadas temperaturas durante el verano, lo que pudiera influir en la espermatogénesis probablemente al principio de otoño, sobre todo considerando que este proceso en conejos dura aproximadamente 42 d (Mocé et al., 2000). Pero la disminución en las horas luz y temperaturas a lo largo de esta estación, también pudieran haber influenciado el comportamiento reproductivo de los machos. Temperaturas elevadas en conejos han demostrado disminuir la libido, la motilidad y alterar la morfología espermática (Brockhausen, Paufler, & Schlolaut, 1979). Durante la

estación de verano se han reportado cambios significativos en el pH e incrementos en el porcentaje de espermatozoides anormales (Amin, El-Foyly, El-Shobhy, & El-Sheebiny, 1987; Hu, Hong, Leng, & Wan, 1983; Virag, Mézes, & Bersényi, 1992). Hu et al. (1983) mencionan que los valores de volumen seminal y la concentración espermática son más altos de marzo a junio y mínimos a principios de otoño. Algunos estudios han demostrado que la libido y calidad seminal son menores en invierno que en primavera (Rodríguez-De Lara et al., 2008). La exposición al estrés calórico ha demostrado disminuir los niveles de testosterona, deseo sexual, volumen seminal, concentración por mililitro y por eyaculado, y motilidad espermática; y aumenta los porcentajes de espermatozoides muertos y anormales (Marai, Habeeb, & Gad, 2002), posiblemente debido a una depresión en el consumo de alimento y en la eficiencia de utilización alimenticia, y a perturbaciones en el metabolismo del agua, energía, proteína y minerales, reacciones enzimáticas, secreciones hormonales y metabolitos sanguíneos. Asimismo, es probable que la edad de los machos en el presente estudio pudiera haber influenciado el comportamiento sexual y la calidad seminal. La madurez sexual en conejos ocurre aproximadamente a los 5 meses de edad dependiendo de la raza, pero la calidad seminal generalmente es menor en conejos viejos (Castellini, 2008).

El comportamiento sexual y las características seminales y espermáticas observadas en el presente estudio están dentro de rangos similares a los reportados por otros autores (Alvariño, 2000; Battaglini, Castellini, & Lattaioli, 1992; Fallas et al., 2011 Rodríguez-De Lara et al., 2010; Rodríguez-De Lara et al., 2015).

El genotipo no influyó el comportamiento sexual ($p>0.05$) y los tiempos de reacción observados de 6.3 ± 11.4 s fueron inferiores a los 8.5 y 13.5 s reportados en conejos maduros fértiles locales Nueva Zelanda Blanco de 15 meses de edad (Fallas et al., 2011; Rodríguez-De Lara et al., 2010) y a los 15.0 s registrados en conejo maduros fértiles California de 18 meses de edad (Aragónés, 2016). La explicación de las diferencias tan marcadas entre el presente estudio y otras

investigaciones pudiera deberse a las diferencias en la edad, la frecuencia de colección de semen, la alimentación y el medio ambiente.

Los conejos híbridos produjeron mayor número de espermatozoides por eyaculado que los conejos Nueva Zelanda Blanco y California ($p < 0.05$). Lo que sugiere la presencia de heterosis, aunque ésta no se estimó. Estos resultados son similares a los publicados en bovinos, donde se encontraron concentraciones espermáticas mayores en sementales híbridos, mostrando efectos de heterosis (Kroetz et al., 2000; Thrift & Aaron, 1987). En comparaciones entre líneas genéticas y de híbridos con razas puras en conejos se ha encontrado que los machos híbridos tienden a expresar ciertas mejoras en varias características seminales, pero cuando se emplean para programas de inseminación artificial muestran efectos de heterosis negativos (Brun, Theau-Clément, Larzul, Falières, & Saleil, 2004; Viudes de Castro et al., 2004). Estos autores concluyen que el uso de machos híbridos tiene desventajas con respecto al uso de machos de razas puras de líneas paternas. Esto se explica por las diferencias en efectos genéticos maternos y la existencia de heterosis para estas características (García et al., 2006).

La mayor concentración espermática por eyaculado en conejos híbridos vs razas puras ($p < 0.05$) no se reflejó en un mayor número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial ($p > 0.05$). Esto se debió a que los conejos híbridos presentaron valores más altos en el porcentaje de espermatozoides estáticos y más bajos en motilidad total y progresiva, particularmente en esta última variable donde hay una clara tendencia a valores menores en híbridos que en razas puras ($p < 0.08$). Asimismo, los conejos híbridos mostraron los valores más bajos en el porcentaje de espermatozoides viables y normales, en donde para esta última variable se observó una fuerte tendencia ($p < 0.08$). Similarmente, los conejos híbridos mostraron ciertas tendencias a presentar valores superiores en los porcentajes de espermatozoides con colas dobladas, colas enrolladas, gotas distales y gotas proximales, lo que también contribuyó a no encontrar diferencias entre genotipos en el número de dosis.

De gran interés fue el hecho que únicamente los conejos híbridos en su segundo eyaculado presentaron una mayor proporción de espermatozoides con colas enrolladas que en el primero. Esto sugiere un efecto de heterosis negativo para esta variable, lo cual no fue probado y requiere de más investigación. En humanos, se ha demostrado que los espermatozoides con colas enrolladas son independientes a la concentración espermática y del estatus hormonal, y de estar asociado con algunos parámetros convencionales de calidad espermática y posiblemente a un medio endógeno hostil o debido a un sub-óptimo ambiente epididimal desconocido (Yeung et al., 2009).

La tendencia de conejos híbridos a presentar valores detrimentales en la viabilidad y en anomalías espermáticas, comparados con las razas puras en la época de otoño es intrigante y sugiere que este genotipo pudiera presentar una mayor susceptibilidad, pero esto no fue probado. Hu et al. (1983) y Virag et al. (1992) mencionan que diferencias de tipo genético y estacional pueden estar involucradas en la incidencia de anomalías espermáticas en conejos.

Los primeros eyaculados tuvieron mayor presencia de gel, volumen y motilidad progresiva con respecto a los segundos. La mayor incidencia de presencia de gel y volúmenes seminales superiores en los primeros eyaculados coinciden con los resultados reportados por Battaglini et al. (1992). La motilidad progresiva más alta en el segundo eyaculado pudiera explicarse por condiciones más favorables en la composición química de los fluidos seminales, pero esto no se determinó. La disminución en la calidad seminal del primer eyaculado con respecto al segundo ha sido atribuida al envejecimiento de los espermatozoides (Axnér, Ström, & Linde-Forsberg, 1997).

La interacción genotipo por orden de eyaculado mostró que la raza California en su primera eyaculación presenta porcentajes más altos de presencia de gel y de volúmenes seminales superiores que Nueva Zelanda Blanco e híbridos, por lo que es probable que estos parámetros estén fuertemente influenciados genéticamente. El segundo eyaculado presentó una concentración espermática superior al primero. Varios autores han encontrado mayores concentraciones

espermáticas en los segundos eyaculados que los primeros (Bencheikh, 1995; Dávila, Badía, & Rebollar, 2004; Desjardins, Kirton, & Hafs 1968; Panella & Castellini, 1990).

Se requieren de más estudios, tanto en conejos puberales como en adultos, a lo largo de las diferentes estaciones del año, para determinar el potencial reproductivo de los genotipos aquí estudiados. Esto permitirá conocer su capacidad reproductiva real y el número de dosis potenciales por eyaculado para su uso en inseminación artificial durante el año. Futuros estudios comparativos entre razas puras e híbridos provenientes de cruces recíprocos deberán estimar los efectos de heterosis en el comportamiento sexual y calidad seminal.

3.6. Conclusiones

Las razas puras utilizadas y el híbrido mostraron ciertas diferencias y tendencias para algunas de las características seminales y espermáticas evaluadas, pero el número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial entre genotipos fue similar; por lo que, el uso comercial de híbridos California x Nueva Zelanda Blanco en reproducción, no debe afectar los resultados en la producción. Los primeros eyaculados proveen mayor cantidad de dosis que los segundos.

3.7. Literatura citada

- Abo el-Ezz, Z. R., Kosba, M. A., Hamdy, S. F., & Soliman, F. N. (1985). Effect of crossing on semen characteristics in rabbits. *Beitrag Zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin*, 23 (4) 429-434.
- Alvariño, M. R. (2000, July). Reproductive performance of male rabbits. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, Spain. 13-35. Consultado en https://www.Researchgate.net/publication/284264388_Reproductive_performance_of_male_rabbits.
- Amann, R. P., & Lambiase J.T. (1967). The male rabbit. I. Changes in semen characteristics and sperm output between puberty and one year of age. *Journal of Reproduction and Fertility*, 14 (2) ,329. doi.org/10.1530/jrf.0.0140329.
- Amin, S. O., El-Foyly, M. A., El-Shobhy, H., & El-Sheebiny, A. H. (1987, December). Effect of season, breed and sequence of ejaculation on some physical characteristics of rabbit semen. *Proceedings of the 1st Conference Agricultural Development Research*, Cairo, Egypt. 54.
- Aragonés, A. (2002). *Evaluación de la respuesta endosótica del semen de conejo*. (Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España). Citado en <https://riunet.upv.es/handle/10251/12203>.
- Axnér, E., Ström, B., & Linde-Forsberg, C. (1997). Sperm morphology is better in the second ejaculate than in the first in domestic cats electroejaculated twice during the same period of anesthesia. *Theriogenology*, 47(4), 929-934. doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00048-4.
- Battaglini, M., Castellini, C., & Lattaioli, P. (1992). Variability of the main characteristics of rabbit semen. *Journal of Applied Rabbit Research*, 15, 439-439.
- Bencheikh, N. (1995). Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du sperme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. *Annales de Zootechnie*, 44 (3), 263-279.
- Brockhausen, P., Paufler, S., & Schlolaut, W. (1979). Influence of heat and stress, due to length of the coat, on semen quality traits, sexual behavior and testis volume of Angora rabbits. *Züchtungskunde* 51 (3), 234-248.
- Brun, J. M., Theau-Clément, M., & Bolet, G. (2002). The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Animail Reproduction Science*, 70 (1-2), 139-149. doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00197-X.

- Brun, J. M., Theau-Clément, M., Larzul, C., Falieres, J., & Saleil, G. (2004, September). Semen production in two lines divergently selected for 63-D body weight. *Proceedings of the 8th World Rabbit Congress*, Puebla, Mexico. 238-44.
- Buchanan, D. S. (1987). The crossbred sire: experimental results for swine. *Journal of Animal Science*, 65 (1), 117-127. doi.org/10.2527/jas1987.651117x.
- Castellini, C. (2008, June). Semen production and management of rabbit bucks. *Proceedings of the Ninth World Rabbit Congress*, Verona, Italy. 555. Consultado en <https://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2008-Verona/Papers/R0-Castellini.pdf>.
- Dávila, M., Badía, S., & Rebollar, P. G. (2004, Abril). Primeros resultados de inseminación artificial en conejas de monte en cautividad. *Proceedings of the XXIX Symposium de Cunicultura*, Lugo, España, 113-118. Consultado en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2886952>.
- Desjardins, C., Kirton, K. T., & Hafs, H. D. (1968). Sperm output of rabbits at various ejaculation frequencies and their use in the design of experiments. *Reproduction*, 15 (1), 27-32. doi.org/10.1530/jrf.0.0150027.
- Dubiel, A., Krolinski, J., & Karpiar, C. (1985). Semen quality in different breeds of rabbits in different seasons. *Medicine Veterinary*, 41 (11) 680-684.
- El-Tarabany, M. S., El-Bayomi, K., & Abdelhamid, T. (2015). Semen characteristics of purebred and crossbred male rabbits. *PloS One*, 10 (5), e0128435.
- Fallas-López, M. (2010). *Suplemento con germinados de trigo como bioestimulo reproductivo en conejos machos*. (Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Estado de México, México). Consultado en <https://mx.123dok.com/document/8yd20ejq-suplemento-con-germinados-de-trigo-como-bioestimulo-reproductivo-en-conejos-machos.html>.
- Fallas-López, M., Rodríguez-De Lara, R., Bárcena-Gama, R., Esqueda, M. S. T., Hernández-Sánchez, D., Martínez-Hernández, P. A., & Aguilar-Romero, O. (2011). Rabbit sexual behavior, semen and sperm characteristics when supplemented with sprouted wheat. *Animal Reproduction Science*, 129 (3-4), 221-228. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.12.009.
- García, M., Sánchez, J., Rafel, O., Ramón, J., & Piles, M. (2006). Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. *Livestock Science*, 100 (2-3), 111-120. doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.08.004.
- Hidalgo, C., Tamargo, C., & Díez, C. (2005). Análisis del semen bovino. *Tecnología Agroalimentaria*, 2, 39-43.

- Hu, J. F., Hong, Z. Y., Leng, H. R., & Wan, O. (1983). Semen quality of German and Chinese Angora rabbits in summer and autumn. *Fur Animal Farming*, 1, 13-15.
- Khalil, M. H., Al-Sobayil, K. A., Al-Saef, A. M., García, M. L., & Baselga, M. (2007). Genetic evaluation for semen characteristics in a crossbreeding project involving Saudi and Spanish V-line rabbits. *Animal*, 1 (7), 923-928. doi.org/10.1017/S1751731107000341.
- Kroetz, I. A., Tahira, J. K., Perotto, D., & Moletta, J. L. (2000). Scrotal circumference and semen characteristics of Charolais, Caracu and reciprocal crossbred bulls. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 24 (2), 101-106.
- Marai, I. F. M., Habeeb, A. A. M., & Gad, A. E. (2002). Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livestock Production Science*, 78 (2), 71-90. doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00091-X.
- Mocé, E., Aroca, M., Lavara, R., & Pascual, J. J. (2000, July). Effect of dietary zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during summer season. *Proceedings of the 7th World Rabbit Congress*. Valencia, España. 203-209.
- Panella, F., & Castellini, C. (1990). Fattori ambientali e genetici che influiscono sulle caratteristiche del seme di coniglio. *Rivista Coniglicoltura*, 27, 39-41.
- Roca J., Martínez S., Vázquez J. M., Lucas X., Parrilla I., & Martínez E. A. (2000). Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in Tris-buffer extenders and stored at 15°C. *Animal Reproduction Science*, 64 (1-2), 103-112. doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00185-8.
- Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., Rangel-Santos, R., Mariscal-Aguayo, V., Martínez-Hernández, P. A., & García-Muñiz, J. G. (2008, June). Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*, Verona, Italy. 443-448.
- Rodríguez-De Lara, R., Noguez-Estrada, J., Rangel-Santos, R., García-Muñiz, J. G., Martínez-Hernández, P. A., Fallas-López, M., & Maldonado-Siman, E. (2010). Controlled doe exposure as biostimulation of buck rabbits. *Animal Reproduction Science*, 122 (3-4), 270-275. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.09.002.
- Rodríguez-De Lara, R., Fallas-López, M., García-Muniz, J. G., Martínez-Hernández, P. A., Rangel-Santos, R., Maldonado-Siman, E., & Cadena-Meneses, J. A. (2015). Sexual behavior and seminal characteristics of fertile mature New Zealand White male rabbits of different body weights.

- SAS. Institute. SAS/STAT users guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. (2016).
- SMN. (2018). Normales climatológicas. Servicio Meteorológico Nacional. Consultado en <http://smn.cna.gob.mx/es/informacion-climatologica-ver-estado?estado=mex>.
- Theau-Clément, M., Bolet, G., Sánchez, A., Saleil, G., & Brun, J. M. (2015). Some factors that influence semen characteristics in rabbits. *Animal Reproduction Science*, 157, 33-38. doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.011.
- Thrift, F. A., & Aaron, D. K. (1987). The crossbred sire: experimental results for cattle. *Journal of Animal Science*, 65 (1), 128-135. doi.org/10.2527/jas1987.651128x.
- Viudes de Castro M. P., Marco-Jiménez F., Vicente J. S., Navarro E., Lavara R., & Mocé E. (2004). Sperm kinetic parameters and differences in seminal plasma composition among two rabbit lines. *Proceedings of the 8th Annual Conference European Society of Domestic Animal Reproduction*. University Poland, Poland. 394. 266.
- Virag, G. Mézes, M., & Bersényi, A. (1992). Effect of independent factors on semen characteristics in rabbits. *Journal Applied Rabbit Research*, 15, 499-499.
- Yeung, C. H., Tuettelmann, F., Bergmann, M., Nordhoff, V., Vorona, E., & Cooper, T. G. (2009). Coiled sperm from infertile patients: characteristics, associated factors and biological implication. *Human Reproduction*, 24 (6), 1288-1295. Consultado en <https://academic.oup.com/humrep/article-abstract/24/6/1288/2915531>.