

Extracción seminal en conejos y su respuesta en procesos de reproducción asistida

Autor

Klaryet Yudith Jaimes Peña

Trabajo de Grado para Optar al Título de Zootecnista

Director

Daniel Felipe Torres Ruda

Msc.Zootecnista

Universidad Industrial de Santander

Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia

Programa de Zootecnia

Bucaramanga

2023

Dedicatoria

El siguiente trabajo investigativo es una muestra de los resultados que he ido mejorando dentro de mi trayectoria académica y personal, en la cual he creído en todos los aspectos de mi vida.

Es por ello que dedico este triunfo a mis padres Jaime Hugo Jaimes y Delis Peña por ser ese apoyo incondicional a lo largo de mi carrera, siendo el soporte y guía en los momentos más difíciles y que a pesar de sus circunstancias me ayudaron a superar mis obstáculos sin alejarme de la presencia de Dios.

En segundo lugar, dedico este logro a Ervin José Calderón Cruz, amigo y hermano que mientras estuvo presente en mi vida me acompañó, motivo y enseñó el valor de la amistad.

Agradecimientos

En primer lugar, a Dios, por ayudarme a terminar mi carrera sin importar la cantidad de errores, por acompañarme en todo momento y buscar lo mejor para mí como persona.

A mis padres por haberme formado como la persona que soy hoy en día, todos mis logros se los debo a ustedes, en especial este.

Gracias por las reglas y las libertades, por buscar lo mejor para mí y por motivarme constantemente para alcanzar mis anhelos.

A Martha Liliana Toscano quien me acompañó durante todo mi proceso formativo, por ser esa amiga, hermana y psicopedagoga, a quien le agradezco por estar presente en los momentos más difíciles.

Tabla de Contenido

	Pág.
1. Objetivos	16
1.1 Objetivo General	16
1.2 Objetivos Específicos.....	16
2. Antecedentes.....	17
3. Marco Teórico.....	19
3.1 La cunicultura en Colombia	19
3.2 Anatomía del aparato reproductor de la especie cunícola.	20
3.2.1 Anatomía del macho.	20
3.2.2 Anatomía de la hembra	21
3.3 Técnicas de reproducción en Conejos.....	23
3.3.1 Métodos de colecta.....	23
3.3.1.1 Vagina artificial.....	23
3.3.1.2 Electro eyaculador.....	24
3.4 Comportamiento sexual	24
3.5 Evaluación de la calidad seminal.	25
3.5.1 Características macroscópicas del semen.	27
3.5.1.1 Volumen.....	28
3.5.1.2 Aspecto.....	28
3.5.1.3 Presencia de Gel.....	28
3.5.2 Características microscópicas del semen.	29
3.5.2.1 Motilidad.....	29

3.5.2.2	Concentración espermática.	30
3.5.2.3	Morfología	31
3.5.2.4	Técnica de análisis de imagen asistido por ordenador: Sistema CASA	34
3.6	Enriquecimiento de semen	35
3.6.1	Fuentes de Licopeno	36
3.6.2	Diluyentes.	37
3.6.2.1	Componentes de los diluyentes naturales y artificiales.	39
3.6.3	Diluyentes Naturales	39
3.6.3.1	Agua de coco.....	39
3.6.3.2	Aloe vera y yema de huevo	40
3.6.3.3	Jugo de Sandia	41
3.6.3.4	Leche descremada.....	41
3.7	Conservación del semen.....	42
3.7.1	Fresco	43
3.7.2	Refrigerado.....	43
3.7.3	Congelación	44
3.7.4	Posición de la hembra	44
3.8	Inducción de la ovulación.	45
3.8.1	hCG o gonadotropina coriónica humana.	45
3.8.2	GnRH o factor hipotalámico liberadora de gonadotropinas.	45
3.9	Inseminación Artificial	46
4.	Metodología	47
4.1	Ubicación:	47

4.2	Animales	47
4.3	Tratamientos.....	47
4.3.1	Métodos de análisis de semen.	48
4.3.2	Preparación de Diluyentes.	48
4.3.3	Protocolo de Inseminación Artificial	49
4.4	Análisis estadístico.....	49
5.	Resultados y Discusión	50
6.	Conclusiones	60
7.	Recomendaciones.....	61
8.	Referencias Bibliográficas.	62
9.	Apéndices.....	73

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía del conejo.....	19
Tabla 2. Criterios de calidad del eyaculado en conejos.	26
Tabla 3. Composición del plasma seminal de conejo.	27
Tabla 4. Grados de valoración de la movilidad masal en semen puro.	29
Tabla 5. Anomalías morfológicas.	32
Tabla 6. Principales características del semen de conejo en el primer y segundo eyaculado.....	34
Tabla 7. Análisis proximal de residuos de tomate deshidratado.....	35
Tabla 8. Contenido Nutricional del Agua de Coco.....	40
Tabla 9. Principales componentes del Aloe Vera.	41
Tabla 10. Fertilidad de Hembras Inseminadas.	59

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Microfotografías de espermatozoides.....	33

Lista de Gráficas.

Grafica 1.Consistencia de smeen fresco de conejo	50
Grafica 2.Volmen de semen fresco de conejo.....	51
Grafica 3.Motilidad masal de semen fresco de conejo	52
Grafica 4.Motilidad individual progresiva del semen fresco de conejo	53
Grafica 5.Concentracion espermatica de semen fresco de conejo	54
Grafica 6.Morfologia de semen fresco de conejo	55
Grafica 7.Evaluación de Motilidad Indivial Progresiva	57

Lista de Apéndices

Apéndice A.Evaluación microscopica del semen de conejo.....	73
Apéndice B.Diferentes malformaciones del espermatozoides de conejo.....	73
Apéndice C.Presencia del gel en el eyaculado de conejo	74
Apéndice D.Diferencia de color en tres eyaculados de conejo.....	74
Apéndice E.Características del semen de conejo.....	75
Apéndice F.Motilidad individual del semen de conejo refrigerado.....	75

Glosario

Cunicultura: Es una actividad del sector pecuario que consiste en la crianza del conejo, con el objetivo de producir principalmente carne blanca para su consumo alimenticio, la cual beneficia al cuerpo humano mediante sus proteínas, bajas calorías y grasas, colesterol, vitaminas y minerales (Di Iorio Y Colonna, 2018).

Colecta seminal: Es una técnica empleada para evaluar la capacidad reproductiva de los machos destinados a la reproducción animal, con el fin de valorar la calidad del esperma, descartar machos con diagnóstico de infertilidad y usar a futuro en la Inseminación artificial (Prado, 2010).

Semen: Es una combinación de espermatozoides y diversas proporciones de secreciones que aportan los diferentes órganos y glándulas del aparato genital masculino, denominadas en conjunto plasma seminal; proveniente de los testículos, de las vías espermáticas de conducción, y de las secreciones de las glándulas accesorias. (Quintero, 2007).

Vagina artificial: Es una imitación de la vagina de la hembra, que, mediante un estímulo térmico y mecánico, desencadena la eyaculación, las partes que componen la vagina artificial son: cilindro externo o cuerpo, robinete, camisa, bandas de sujeción, cono, tubo colector y funda (Holtz Y Foote, 1978).

Espermatozoide: Es una célula haploide de contexto masculino, que busca su función con un ovulo femenino para generar vida a través de la conformación de un feto. Esta función es exclusiva de los machos de las diferentes especies, llevándola consigo mediante la expulsión de semen (Quintero, 2007).

Diluyente: Son sustancias hidrosolubles de baja toxicidad, que disminuyen el punto eutéctico de una solución dada, alcanzando una concentración de solutos a una temperatura menor, de forma que la célula este más deshidratada y el gradiente osmótico al que debe estar sea menor (Palomino, 2019).

Inseminación Artificial: Es una técnica que ofrece frente a la monta natural una serie de ventajas de manejo, permitiendo sincronizar partos de un gran número de animales; además, constituye una herramienta que facilita la difusión genética de alta calidad, permite la utilización de semen refrigerado o congelado durante años y disminuye los riesgos de diseminación de enfermedades (Dolores Y Perez, 1993).

Resumen

Título: Extracción seminal en conejos y su respuesta en procesos de reproducción asistida *

Autor: Klaryet Yudith Jaimes Peña**

Palabras Clave: Semen, vagina artificial, diluyentes naturales, motilidad, concentración, leche descremada, inseminación artificial, licopeno.

Descripción:

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de Licopeno en la dieta sobre las variables de calidad seminal y su efecto sobre la reproducción asistida, conservándolo mediante 5°C. Se emplearon 10 machos mestizos, distribuidos en dos grupos To: Tratamiento control y T1:65g/día de tomate deshidratado como fuente de licopeno. Se realizaron 10 colectas seminales con vagina artificial, tomando primer y segundo eyaculado. Para la evaluación se utilizó (NaCl 0.09% como diluyente. Se evaluó volumen (mL), motilidad masal (1-5), motilidad individual progresiva (%), morfología (%) y Concentración (Spz x10.6). Para volumen, motilidad masal, concentración se encontraron valores medios de $0,60 \pm 0,24$ mL, $3,19 \pm 1,7$, $169,61 \pm 15,7 \times 10^6$ spz/mL, respectivamente. La información fue analizada mediante una prueba t-student con una confianza del 95%. Para el volumen, motilidad masa, concentración, color y aspecto seminal del semen fresco ($p > 0,05$) no hubo diferencia significativa, tanto para el primer y segundo eyaculado, ni para los tratamientos To y T1. La Motilidad individual progresiva y la Morfología presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con una media de $56,52 \pm 8,3\%$, y 72% respectivamente. Se utilizo un pool de semen con licopeno para la IA obteniendo 33% de fertilidad. Se evaluó la capacidad de conservación de semen usando 4 diluyentes. El semen refrigerado con leche descremada arrojos mayores resultados MIP frente a otros diluyentes durante 10h. La inclusión de licopeno en la dieta mejora la Motilidad Progresiva y la Morfología. Asimismo, los diluyentes compuestos por leche descremada, azúcares y caseinatos de sodio, son una alternativa apropiada para la conservación de semen. La respuesta en procesos de Biotecnología reproductiva no alcanza los estándares registrados. Se recomienda hacer nuevos estudios en semen de conejo que utilicen fuentes de antioxidantes como licopeno que mejoren la respuesta reproductiva y la calidad seminal.

* Extracción seminal en conejos y su respuesta en procesos de reproducción asistida.** Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia. Programa de Zootecnia. Director: Daniel Felipe Torres Ruda. Msc. Zootecnista

Abstract

Title: Seminal extraction in rabbits and its response in assisted reproduction processes. *

Author(s): Klaryet Yudith Jaimes Peña **

Key Words: Semen, artificial vagina, natural diluents, motility, concentration, skim milk, artificial insemination, lycopene.

Description:

The objective of this work was to evaluate the effect of the inclusion of lycopene in the diet on seminal quality variables and its effect on assisted reproduction, preserved at 5°C. Ten mongrel males were used, distributed in two groups To: Control treatment and T1: 65g/day of dehydrated tomato as a source of lycopene. Ten seminal collections were performed with artificial vagina, taking first and second ejaculate. For the evaluation, NaCl 0.09% was used as diluent. Volume (mL), mass motility (1-5), individual progressive motility (%), morphology (%) and concentration (Spz x10⁶) were evaluated. For volume, mass motility and concentration, mean values of 0.60 ± 0.24 mL, 3.19 ± 1.7 , $169.61 \pm 15.7 \times 10^6$ spz/mL, respectively, were found. The information was analyzed using a t-student test with 95% confidence. For volume, mass motility, concentration, color and seminal appearance of fresh semen ($p > 0.05$) there was no significant difference, both for the first and second ejaculate, nor for the To and T1 treatments. Progressive individual motility and morphology showed significant differences between treatments with a mean of $56.52 \pm 8.3\%$ and 72% , respectively. A semen pool with lycopene was used for AI obtaining 33% fertility. Semen preservation capacity was evaluated using 4 diluents. Semen refrigerated with skim milk yielded higher MIP results compared to other diluents for 10h. The inclusion of lycopene in the diet improved progressive motility and morphology. Likewise, diluents composed of skim milk, sugars and sodium caseinates are an appropriate alternative for semen preservation. The response in reproductive biotechnology processes does not reach the registered standards. It is recommended to carry out new studies in rabbit semen using antioxidant sources such as lycopene to improve reproductive response and semen quality.

* Seminal extraction in rabbits and its response in assisted reproduction processes** Institute of Regional Projection and Distance Education. Animal Husbandry Program. Director: Daniel Felipe Torres Ruda. Msc. Zootechnician.

Introducción

La cunicultura es una actividad del sector pecuario que consiste en la reproducción, cría y engorde de conejo, orientada a obtener proteína de origen animal de bajo costo y alto valor nutritivo, destacándose por su baja inversión inicial (Criado Y Deháquiz, 2019). La podemos encontrar con facilidad en comunidades rurales, ya sea como una producción familiar, llevando a cabo la práctica pecuaria no tradicional a pequeñas escalas, conocidas como minifundios, o como una producción industrial trabajada en un sistema intensivo con aprovechamiento a gran escala (Cortes et al., 2019). Además, es reconocida por sus distintos aprovechamientos como: la carne, piel, pelo y heces convirtiéndose en un objetivo de investigación y producción.

En los últimos años se ha destacado por la búsqueda constante de técnicas que mejoren su productividad, teniendo como base el conocimiento de la fisiología reproductiva y el desarrollo de la reproducción, en técnicas como la colecta seminal e inseminación artificial, las cuales, han cobrado relevancia a nivel internacional gracias a las características productivas y biológicas que posee esta especie como la ovulación inducida (Quintero, 2010). Algunas investigaciones han informado sobre las características del semen, pero poco se refieren a factores específicos como la raza, época del año, frecuencia de colecta, nutrición o incluso estrategias dietéticas durante su obtención (Palma Y Brem, s. f.).

Los métodos para la valoración de la calidad del semen son un método que permiten estimar la fertilidad de los machos, por medio de análisis micro y macroscópico, sin embargo, las valoraciones de laboratorio no predicen con exactitud su rendimiento productivo, dado que, no se obtiene una repetitividad entre un análisis u otro, debido a que influyen varios factores en su respuesta, tales como: la nutrición, sanidad, manejo, entre otros (Suárez et al., 2021); es importante desarrollar estos estudios para contribuir con la diversidad genética y el crecimiento de la

producción cunícola, mejorando la calidad del semen y con ello ampliando espacios para el desarrollo de técnicas de reproducción asistida (Lavara R et al., 2008).

En Colombia no se registra un programa de divulgación a nivel regional, ni departamental que ayude a mejorar la variabilidad genética con la que se cuenta actualmente, limitando el desarrollo de procesos de biotecnología reproductiva en la cunicultura, y conservando la monta natural como único método para multiplicación de la especie (Cortes et al., 2019); este ha contribuido al flujo económico en los cunicultores, sin embargo genera pérdidas económicas, ya sea por la transmisión de enfermedades de enfermedades sexuales o por contacto, un mayor número de machos y un mayor gasto económico en alimento, generando percepciones negativas acerca de la biotecnología reproductiva y el coste de su aplicación (Rangel, 2021).

Por eso que por medio de este estudio busca potenciar el uso de la biotecnología reproductiva, fomentando el uso de materias primas como método de alimentación e implementando dietas ricas en antioxidantes para mejorar la calidad seminal. Teniendo como objetivo evaluar el efecto de la inclusión de tomate como fuente de licopeno en la dieta sobre las variables de calidad seminal y su efecto sobre la reproducción asistida; utilizando diluyentes naturales para la conservación seminal.

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la inclusión de tomate como fuente de Licopeno en la dieta sobre las variables de calidad seminal y su efecto sobre la reproducción asistida.

1.2 Objetivos Específicos

Determinar el efecto de la inclusión de tomate como fuente de licopeno sobre las variables de calidad seminal durante los cambios de dieta en la producción cunícola.

Comparar la conservación espermática de cuatro diluyentes naturales como método de conservación seminal a una temperatura de 5°C.

Establecer la eficiencia en los procesos de reproducción asistida en conejas mestizas utilizando semen con inclusión de licopeno.

2. Antecedentes

Shengyong et al., (2022) En su investigación por demostrar que puede mejorar el rendimiento y crecimiento del animal, aumentar el contenido de ácidos grasos polinsaturados, mejorar la capacidad antioxidante y la calidad espermática usando orujo de tomate en lugar de harina de soja como suplemento proteico es un punto de investigación en la ganadería industria. Obtuvo que el tomate como método de alimentación en conejos, aumenta los ácidos grasos polinsaturado un 45% con el uso de tomate del 6% en la dieta, no afecto la calidad de la canal, el pH del musculo y el estado de la carne; además de mejorar el 30% la concentración espermática suplementando 250mg/kg en su dieta; usando un diseño completamente al azar, con dos tipos de pienso como método de deshidratación del orujo de tomate.

Mangiagalli et al., (2010) En su investigación evaluó el efecto del Licopeno a través de la bebida en agua sobre las características del semen fresco y almacenado, y sobre el rendimiento reproductivo del macho. Analizo los datos recolectados durante la investigación usando un procedimiento de modelo lineal general (SAS 9,1 2001). Obteniendo como resultado que la mayor ingesta de antioxidante fue de 0,14 g/día por animal, obteniendo una media de volumen 0,98ml, concentración 359 Spz $\times 10^6$, Vitalidad 74,6%, motilidad 37%. Los resultados muestran que en conejos machos la adición de licopeno al agua de bebida aumenta la producción de semen, volumen y número total de espermatozoides, y mejora la cinética de los espermatozoides características y viabilidad durante el almacenamiento del semen a 5°C. Por lo tanto, el licopeno podría usarse como un antioxidante alternativo a otras moléculas, como las vitaminas E y C, ampliamente estudiadas y utilizados en la producción animal.

Theau-Clement et al., (2011).En su estudio analizo la relación entre las características del semen de conejo y su fertilidad, y su respuesta en la Inseminación Artificial; tomando muestras

seminales con un total de 275 eyaculados de 128 machos, divididos en 5 lotes sucesivos y realizando 2021 inseminaciones; obteniendo como resultado que la fertilidad está influenciada por la motilidad masal y por el porcentaje de células móviles, obteniendo una ganancia media de 1 conejo nacido vivo por camada cuando el semen tiene al menos inicios de movimiento ondulatorio o un porcentaje de células vivas superior a células superior al 84%. Sin embargo, un porcentaje de espermatozoides rápidos superior al 82% parece disminuir el poder fecundante del semen, tal vez como consecuencia de un metabolismo demasiado intenso.

Suárez et al., (2020) Evaluaron el uso de diferentes diluyentes para la refrigeración de semen de conejo y su efecto sobre la calidad espermática; realizando 30 muestras de semen en un total de 10 machos. Se usaron 4 diluyentes (leche descremada y azúcar, dextrosa, citrato de sodio y acetato potásico, caseinato de sodio y Triladyl con yema de huevo). Manteniendo el semen a 16°C durante 72 horas, evaluando la motilidad total y Motilidad Progresiva. El análisis estadístico se realizó mediante modelos mixtos y la comparación de medias por la prueba de Duncan. Arrojando como resultado una mayor conservación de la viabilidad en el tiempo para T1 y T3 ($p < 0.05$). Se concluye que los diluyentes compuestos por leche descremada o caseinatos con azúcares protegen de forma más eficiente los espermatozoides de conejo conservados mediante refrigeración.

3. Marco Teórico

3.1 La cunicultura en Colombia

La cunicultura en Colombia se registró a partir de 1960, presentando sus orígenes en los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca y Cundinamarca. (Alzate Y Torres, 2021) Actualmente, es un subsector de la economía Colombiana , que no se ha desarrollado, debido a factores como: el desconocimiento de las propiedades de su carne y el manejo de los sistemas productivo, desconociendo la variedad de biotipos raciales (Alzate Y Torres, 2021). Algunos de los estudios más recientes se han desarrollado en animales de la raza Nueva Zelanda, sin embargo, la mayoría de reportes locales, reportan la presencia individuos de las razas: Mariposa, Californiano, Holandesa, Chinchilla entre otros, los cuales se pueden clasificar a partir de parámetros que van desde el peso, coloración y morfología del animal. En la Tabla 1 se presentan los criterios de clasificación de la especie cunícola.

Desde hace algunos años en Colombia y en otros países en desarrollo, se ha discutido la idea de que los conejos son la mejor alternativa de producción de carne en las pequeñas parcelas de los campesinos, como una posible solución, al bajo consumo de proteína animal (Criado Y Deháquiz, 2019).

Tabla 1.

Taxonomía del conejo.

Reino	Animal
Subreino	Metazoos
Tipo	Cordados
Clase	Mamíferos
Subclase	Vivíparos
Orden	Lagomorfos
Familia	Leporidae
Subfamilia	Leporinae
Genero	Oryctolagus

Reino	Animal
Especie	Oryctolagus cuniculus

Nota: Datos tomados de (Linnaeus, 1758).

3.2 Anatomía del aparato reproductor de la especie cunícola.

La reproducción es la base para mantener la economía dentro de un sistema productivo, siendo conveniente conocer el aparato reproductor y la fisiología del animal.

3.2.1 Anatomía del macho.

El macho representa mas del 50% de perdidas dentro de una produccion,siendo necesario llevar un ritmo reproductivo que mantenga su calidad seminal sin generar modificaciones.Según Bozbiyik, (2022), se requiere que el macho tengo dos saltos,cada dos dias,para mantener una vida útil de 2 a 3 años. Su pubertad comienza entre los 4-6 meses de edad o bien con el 80% de peso de adulto (3500kg)CITA, una característica portada desde los años 70,clasifica al conejo como especies es la de ser “endorquido facultativo” teniendo la capacidad para modificar a voluntad la ubicacion de sus testiculos acorde a situaciones de stress y cambio de temperatura (Holtz Y Foote, 1978). A diferencia de las hembras,el macho libera al mismo tiempo las hormonas FSH y LH,actuando sobre los testiculos, donde la FSH produce el crecimiento,maduracion y liberacion de los espermatozoides y la LH la producción de testosterona afectando el libido o deseo sexual frente a la hembra (Foote, 2000).

A continuación, se presentan las principales características de los órganos del aparato reproductor del macho: Testículos, epidídimo, con ductos deferentes, vesículas seminales, glándula para prostática, próstata, glándula de Cooper y pene.

- **Escroto:** Los testículos se encuentran alojados en el escroto, el cual está formado por la túnica vaginal, la túnica dartos y el músculo cremáster; su función principal es mantener los testículos alejados de la cavidad abdominal para que la temperatura testicular se

mantenga entre 0,5 ° C y 4 ° C por debajo de la temperatura corporal, como se requiere para la espermatogénesis normal (Chikaodiri, 2020).

- **Pene:** Es un órgano copulador con ausencia de glánde de forma cilíndrico de 40 a 50 mm de largo y el diámetro disminuye en su extremo, durante el descanso del sexo; el pene se encuentra en el prepucio ubicado ventralmente al ano y caudalmente a los testículos (Alarcón, 2023).
- **Epidídimo:** El epidídimo es el lugar donde se almacenan los espermatozoides producidos antes de ser liberados durante la eyaculación y su parte funcional consta de un solo conducto; el epidídimo se origina en los conductos deferentes siendo curvado en la cabeza, el cuerpo y la cola y se conecta directamente con los conductos deferentes (Chikaodiri, 2020).
- **Uretra:** La uretra es un canal grande que se conduce a través del pene hacia el exterior del cuerpo; es el punto de conexión entre los conductos deferentes de ambos hemisferios para conectarse a su extremo superior muy cerca de donde la vejiga urinaria (Chikaodiri, 2020).
- **Testículos:** Tienen forma ovalada y son la principal fuente de testosterona en los conejos, la cual, es el principal andrógeno producido durante la maduración sexual (Holtz Y Foote, 1978).

3.2.2 Anatomía de la hembra

Las conejas inician su primer celo entre los 4-6 meses presentando síntomas como marcaje con orina, inquietud, cierta agresividad y monta, la edad aconsejable para que una coneja este en reproducción es cuando alcanza el 80% de su peso adulto, alcanzando cambios notables en su anatomía reproductiva (Marai, 2002). Las principales partes del aparato reproductor de la hembra son: Ovarios, Oviducto, Útero, Vagina y Vulva.

- **Ovarios:** Los ovarios son los responsables de la producción de esteroides sexuales y de gametos femeninos (Chikaodiri, 2020).
- **Oviducto:** Es el conducto por el cual el ovulo maduro se desplaza hacia el útero, convirtiéndose en el punto de encuentro de los espermatozoides, originando la fertilización. Además, el oviducto es responsable de la formación de la capsula cornea, una envoltura que rodea al embrión y protege durante su desarrollo(Tvrda et al., 2012).
- **Útero:** El útero de la coneja tiene la particularidad de estar compuesto únicamente por los dos cuernos uterinos, cada uno termina directamente en la vagina, a través de su propio cuello uterino; estos cuernos uterinos miden de 10 a 12 cm de largo con un diámetro de entre 4 y 7 mm dependiendo de la edad de la coneja (Bozbiyik, 2022).
- **Vagina:** Es un órgano cilíndrico, musculoso provisto de una mucosa carente de glándulas. Su capa muscular presenta un estrato longitudinal externo y circular interno. Su longitud es de 6 a 10 cm. En el tercio posterior desemboca la uretra. Es el órgano de la copula y permite el paso de los fetos durante el parto (Chikaodiri, 2020).
- **Vulva:** Constituye la terminación del canal genital, está formada por una hendidura con dos gruesos labios, en cuyo ángulo ventral está localizado el clítoris, órgano sensible y homólogo al pene, recubierto por dos cuerpos cavernosos que le dan capacidad de erección; la vulva dispone de glándulas sebáceas, sudoríparas y formaciones pilosas. Su longitud es de 1 cm. Presenta variaciones de coloración que están relacionadas con la receptibilidad sexual (Allende y Arisnabarreta, 2003).

3.3 Técnicas de reproducción en Conejos

3.3.1 Métodos de colecta

La extracción del semen al igual que la monta natural se realiza en la jaula del macho con un proceso meticuloso que no altere las condiciones de pureza o propiedades biológicas del eyaculado garantizando el éxito de la fecundación (Asibor et al., 2022). Son varios los métodos que se han ideado para la recolección del esperma, dentro de los más comunes y estudiados se encuentran la vagina artificial y el electro eyaculación (Arencibia y Fernández, 2009).

3.3.1.1 Vagina artificial.

Este es el método más difundido en la actualidad para la recolección del semen, facilitando el manejo y simulando las condiciones fisiológicas del tracto reproductivo de la hembra incluidos los estímulos térmicos, elásticos y mecánicos, generando la acción voluntaria de erección del macho y alcanzando la mejor calidad del semen (Romero et al., 2020) Está compuesta por un cilindro externo y una camisa interna (goma de látex), que revierte sus bordes sobre los extremos del cuerpo central, quedando un espacio entre ambos, donde se introduce agua caliente y en uno de los extremos se acopla un tubo colector para la recogida del semen (Battaglini, 2017); es preferible que la temperatura del agua supere los 42°C al llenar el depósito, para que más tarde en el momento de la intromisión peneana la temperatura simule las condiciones cercana de 40°C; si la temperatura es menor el macho rechazará la monta, sin embargo, altas temperaturas podemos maltratar el pene del animal, además de, un shock térmico a los espermatozoides, los cuales no sobrevivirán por mucho tiempo (Di Iorio y Colonna, 2018).

3.3.1.2 Electro eyaculador.

Es un método de estimulación eléctrica donde los centros nerviosos del sistema pélvico se activan al dar pulsos eléctricos muy leves en la próstata y vesículas seminales, generando la erección y posterior eyaculación (Gallegos, 2019). Este método genera mayor volumen del eyaculado comparados con los obtenidos por la vagina artificial, sin embargo, puede presentar menores concentraciones espermáticas (Lopez, 2020).

3.4 Comportamiento sexual

La libido o instinto sexual está determinado por las condiciones en las que se encuentra el reproductor en el momento de realizar el servicio, variando según los factores ambientales, manejo, alimentación, sanidad y bienestar animal, modificando la calidad de libido e instinto sexual del macho (Proaño, 2022). El manejo tiene una importancia mayor en cunicultura, frente a otras especies ganaderas, debido a que en la reproducción la característica de sensibilidad puede generar estrés creando diferencia en los resultados (Feknous et al., 2021).

Según, Fusi (1994), el comportamiento del macho domestico está limitado dado a su poca adaptación a las practicas llevan a cabo en los sistemas cunícola, así en el momento que se da el cortejo con la hembra se reduce los veloces giros en la jaula y la emisión de chorros de orina. Algunos factores que determinan el comportamiento sexual y calidad seminal del conejo, se presentan a continuación.

- **Madures Sexual:** se da aproximadamente a los 120 días; es el momento en el que el nivel de producción diaria de espermatozoides presentando un alto porcentaje de espermatozoides incompletos, inmaduros y con malformaciones, siendo su motilidad escasa (Chikaodiri, 2020).

- **Frecuencia de colectas:** El ritmo óptimo de recogida es de dos saltos dos veces por semana para mantener la libido y no afectar la producción espermática tanto en calidad como en cantidad, pero, si la frecuencia de emisión seminal es muy intensa, es necesario dejar transcurrir tres semanas para volver a obtener un semen con las características iniciales (Mahmoud et al., 2022).
- **Iluminación:** Algunos datos que el deseo sexual parecen indicar que los machos sometidos a 8 horas de luz al día frente a las 16 horas de luz habituales, sin embargo, la exposición de los machos a 16 horas de luz permite obtener un semen de mejor calidad frente a las 8 horas (Argudo et al., 2022).
- **Temperatura:** Los fuertes calores disminuyen la aptitud de monta de los animales y afectan a la fertilidad de los machos; cuando la temperatura ambiental supera los 27°C la motilidad y la concentración espermáticas disminuyen significativamente; así mismo, las concentraciones de testosterona en plasma se ven reducidas significativamente respecto a niveles hormonales de machos a 20 °C .Las temperaturas elevadas y prolongadas durante varios días, afectan a la espermatogénesis (Morera et al., 2014).
- **Otros factores:** Las variaciones de la fertilidad del macho también se limitan por la alimentación, el estado sanitario de los animales y la calidad genética afectando las características del semen generando problemas de infertilidad (Allende y Arisnabarreta, 2003).

3.5 Evaluación de la calidad seminal.

El análisis de calidad seminal se determina realizando un examen físico del reproductor, y una evaluación macroscópica y microscópica de los eyaculados, con el fin de predecir a través de las mismas, la fertilidad del reproductor (Gonzalo, 2020). Según, Arencibia Y Fernández, (2009)

la fertilidad de un macho depende de que exista un espermatozoide con un nivel aceptable en todas sus cualidades, en el lugar adecuado y en el momento preciso, con un eyaculado que contenga un número determinado de estos espermatozoides.

Los análisis de laboratorio se realizan con los mismos criterios que en otras especies, divididos en dos grandes apartados, el primero es un análisis macroscópico que incluye características como: (color, volumen, aspecto etc.) y el segundo es de tipo microscópico, en el cual se cuantifican variables específicas como: motilidad, concentración, porcentaje de espermatozoides vivos, entre otros. (Romero Y Tiparra, 2018). En la tabla 2, se presentan algunos indicadores de calidad seminal.

Tabla 2.

Criterios de calidad del eyaculado en conejos.

Parámetros	Eyaculado	Criterios de aceptación	
Volumen (ml)	0,86 ± 0,05	Movimiento	Calidad
Densidad/ Consistencia	Denso, cremoso	> 95%	Muy buena
Color	Blanco, anaranjado	80% – 95%	Buena
pH	7,49 ± 0,05	65% – 80%	Media
Espermatozoides x10 ⁶	421 ± 43,5	50% – 65%	Baja
Motilidad (%)	60 ± 2,8	< 50%	Muy baja

Nota: Tomado de (Catellini et al., 2007) como guía para una futura valoración de la movilidad espermática.

Durante la manipulación del semen debemos considerar los siguientes puntos críticos:

- **Variaciones térmicas:** Los cambios bruscos de temperatura pueden alterar el metabolismo de los espermatozoides provocando la muerte de los mismos, siendo los puntos críticos, la temperatura de la vagina artificial y la temperatura del diluyente (Marai, 2002).
- **Productos químicos:** El material que va a estar en contacto con los espermatozoides debe estar correctamente lavado, secado y desinfectado, evitando la presencia de restos de cloro, alcohol, yodo, entre otros (Arencibia Y Fernández, 2009).
- **Shock mecánico:** Durante el proceso de dilución del semen no se debe agitar la muestra, ya que la homogeneización se realiza lentamente evitando la oxigenación y contacto con fuentes de aire (Di Iorio et al., 2014).
- **Radiaciones:** Evitar la exposición prolongada a la luz solar o radiaciones ultravioleta (Argudo et al., 2022).

3.5.1 Características macroscópicas del semen.

El semen de conejo está compuesto por espermatozoides suspendidos en un líquido denominado plasma seminal, resultado de la combinación de las secreciones del epidídimo y las glándulas accesorias que presenta grandes concentraciones de fructosa, ácido cítrico y grasa (Cherfaoui et al., 2013). En la tabla 3, se presenta la composición del plasma seminal del conejo.

Tabla 3.

Composición del plasma seminal de conejo.

Compuesto/elemento	Concentración
Fructosa (mg/100 ml)	40-150
Sorbitol (mg/100 ml)	80
Ácido cítrico (mg/100 ml)	70-200
Proteína (mg/100 ml)	abr-15
Glicerilfosforilcolina (mg/100 ml)	215-370

Compuesto/elemento	Concentración
Sodio (mmol/l)	80-140
Potasio (mmol/l)	23-120
Fósforo (mmol/l)	1-mar
Magnesio (mmol/l)	2-abr
Calcio (mmol/l)	2-ago

Nota: Tomado de (Alvariño, 2000)

3.5.1.1 Volumen

El volumen del eyaculado no es constante, este varía según el individuo, la edad, el tipo genético, ambiente y el número de eyaculados (Cherfaoui et al., 2013), siendo una variable cuantificable que se lee directamente en los tubos graduados de recogida. Según Romero et al., (2020) el volumen del eyaculado de conejo varía de 0,1 a 1,4ml siendo su media 0,7ml.

3.5.1.2 Aspecto

Determinado por la consistencia y color del eyaculado que indirectamente nos da una idea de la concentración de espermatozoides; la consistencia normal que debe manifestar el eyaculado es variada y puede ir desde cremosa hasta lechosa (Aragón, 2019). En cuanto al color del eyaculado, se considera normal el color blanco nacarado y el blanco marfil (Días De Oliveira et al., 2023).

3.5.1.3 Presencia de Gel.

Los conejos son animales de eyaculación bifásica, presentando una porción compuesta por un líquido traslúcido, viscoso, con pequeñas gotas de grasa denominado gel o tampón mucoso, y otra porción compuesta por el líquido seminal (Foote, 2003). Ferrián, (2007) plantea que la presencia de gel es perjudicial porque ejerce un efecto aglutinador sobre los espermatozoides perdiendo gran parte de su movilidad y es por esto que es necesario separarlo del semen antes de proceder a la valoración.

Desde los años 50 se han realizado estudios sobre la composición del eyaculado del conejo, identificado que la parte gelatinosa, es necesaria para el lumen de la vagina como una acción de

tampón, impidiendo que el semen salga (NN, 1951). Sin embargo, Costa et al., (2011) consideran que la producción y el mantenimiento de la masa gelatinosa depende de la producción de testosterona de macho, probándolos en machos castrados.

3.5.2 Características microscópicas del semen.

3.5.2.1 Motilidad.

La motilidad de los espermatozoides, generalmente se evalúa examinando varios campos aleatoriamente, existiendo dos maneras de evaluar:

- **Movilidad Masal**

Se evalúa depositando una gota de semen puro en un portaobjetos, a un aumentó óptico de 4X y se valora la velocidad con la que se mueven los remolinos que se forman en la superficie; este debe ser realizado lo más rápido posible después de la colecta, a una temperatura de 37°C (Foote, 2003). Según, Brunet al., (2002) la puntuación de motilidad masal es el rango más influyente en la tasa de nacimientos, teniendo relación con la fertilidad, probablemente debido a la manera en que se evalúa. En la tabla 4 se presenta los grados de valoración de motilidad masal del semen de conejo.

Tabla 4.

Grados de valoración de la movilidad masal en semen puro.

<i>Grado</i>	<i>Clave</i>	<i>Descripción</i>
5	Muy bueno	Denso con hondos, moviéndose rápidamente, no pueden observarse espermatozoides individuales, 90% o más de los espermatozoides son activos.
4	Bueno	Movimiento vigoroso, pero las ondas y los remolinos no muy rápidos como para grado 5, alrededor de 70-85% de espermatozoides son activos
3	Regular	Bajo movimientos de ondas, espermatozoides individuales pueden ser observados 45 a 65% de células espermáticas activas.

<i>Grado</i>	<i>Clave</i>	<i>Descripción</i>
2	Pobre	No se forman ondas, pero algún movimiento es observado, solo 20 a 40% de los espermatozoides están vivos y su movilidad es pobre.
1	Muy pobre	Muy pocos espermatozoides, alrededor del 10% muestran algún signo de vida, con movimientos estacionarios
0	Muertos	Todos los espermatozoides no se mueven

Nota: Tomado de (Alzate Y Torres, 2021).

- **Movilidad Individual Progresiva.**

Se evalúa teniendo en cuenta los movimientos vigorosos del espermatozoide como factor clave para determinar la calidad del eyaculado, estimando que las células espermáticas sean capaces de atravesar el tracto genital de la hembra hacia el lugar de fecundación; se determinando el porcentaje de espermatozoides con desplazamiento progresivos y rectilíneos como un buen indicador de la calidad del semen frente a desplazamientos circulares (Castellini et al., 2006). El semen de buena calidad debe presentar un mínimo del 60% de espermatozoides móviles y de 50% de progresión rectilínea; la motilidad depende de una fuente de energía esencial como la fructosa que están presentes en el plasma seminal (Suárez et al., 2021). Sin embargo, existen factores que afectan su valor, como son: Temperatura, Luz, Contacto con agua, Impureza y bacteria, Desinfectantes, Exposición prolongada al aire, Presión osmótica del diluyente.

3.5.2.2 Concentración espermática.

Es un parámetro importante en la evaluación del eyaculado, ya que existe una correlación significativa entre el número de espermatozoides y la fertilidad del reproductor, una mayor concentración permite un mayor número de dosis para la inseminación artificial, sin embargo, esta esté varia, dependiendo de la edad, el método de colecta, desarrollo sexual, la alimentación y sanidad (Theau-Clement et al., 2011).

El eyaculado del conejo contiene una gran cantidad de partículas secretadas por diferentes glándulas y parecen desempeñar un papel importante en la capacitación espermática y la reacción acrosómica del espermatozoide (Castellini, 2008); la elevada presencia de estas partículas en el semen de conejo dificulta la determinación de la concentración espermática, en la técnica CASA (Computer-Assisted Semen Analyzer), ya que no proporciona una medición precisa de concentración de espermatozoides, teniendo en cuenta la relación partícula/espermatozoide (Catellini et al., 2007).

3.5.2.3 Morfología

Todos los animales presentan un porcentaje de espermatozoides morfológicamente anormales que varían según la especie, en la cunícola se considera que dicho porcentaje no debe superar el 25% (Lankri, et al., 2019). Según, Ewuola et al., (2022) estas anomalías podrían deberse a situaciones como: traumatismos e infecciones a nivel gonadal, disfunción en los túbulos seminíferos, maduración de los espermatozoides o causa de infertilidad en el macho; asimismo, los factores climáticos o nutricionales y las enfermedades infecciosas son factores predominantes que provocan la aparición de anomalías espermáticas. En los años 80 se logró identificar que la hipoplasia gonadal, la degeneración testicular, la disfunción epidídimal, así como la edad avanzada de los reproductores determinan un aumento de la frecuencia de células espermáticas anormales (Hafez, 1989).

Las anomalías morfológicas pueden afectar a una de las tres partes del espermatozoide (ver figura 1): cabeza, pieza intermedia y cola, y podría indicarse el momento y la fase donde sufre un daño el espermatozoide, lo que generaría dificultad en la fecundación. Se pueden distinguir dos tipos de defectos espermáticos: las anomalías espermáticas primarias, originadas en los testículos durante la fase de espermatogénesis; y las anomalías espermáticas secundarias, originadas en el

epidídimo durante la fase de maduración y almacenamiento de los espermatozoides (Sousa et al., 2013).

La evaluación de las anomalías morfológicas se realiza bajo un microscopio, usando un método de tinción con eosina-nigrosina (Jimoh y Ewuola, 2018). La presencia de espermatozoides morfológicamente anormales son un indicador importante del potencial del semen en la fertilidad.(Adeyemi et al., 2021). En conejos se observó correlación negativa entre el porcentaje de espermatozoides anormales y la tasa de nacimientos, sin embargo, es difícil comparar resultados obtenido entre estudios debido a la forma subjetiva en que se evalúa las anomalías y sus tipos de clasificación (Vozaf et al., 2023).En la tabla 5 se presenta la clasificación presentada por (Vizzarri et al., 2019). donde se tienen en cuenta las anomalías en diferentes piezas del espermatozoide.

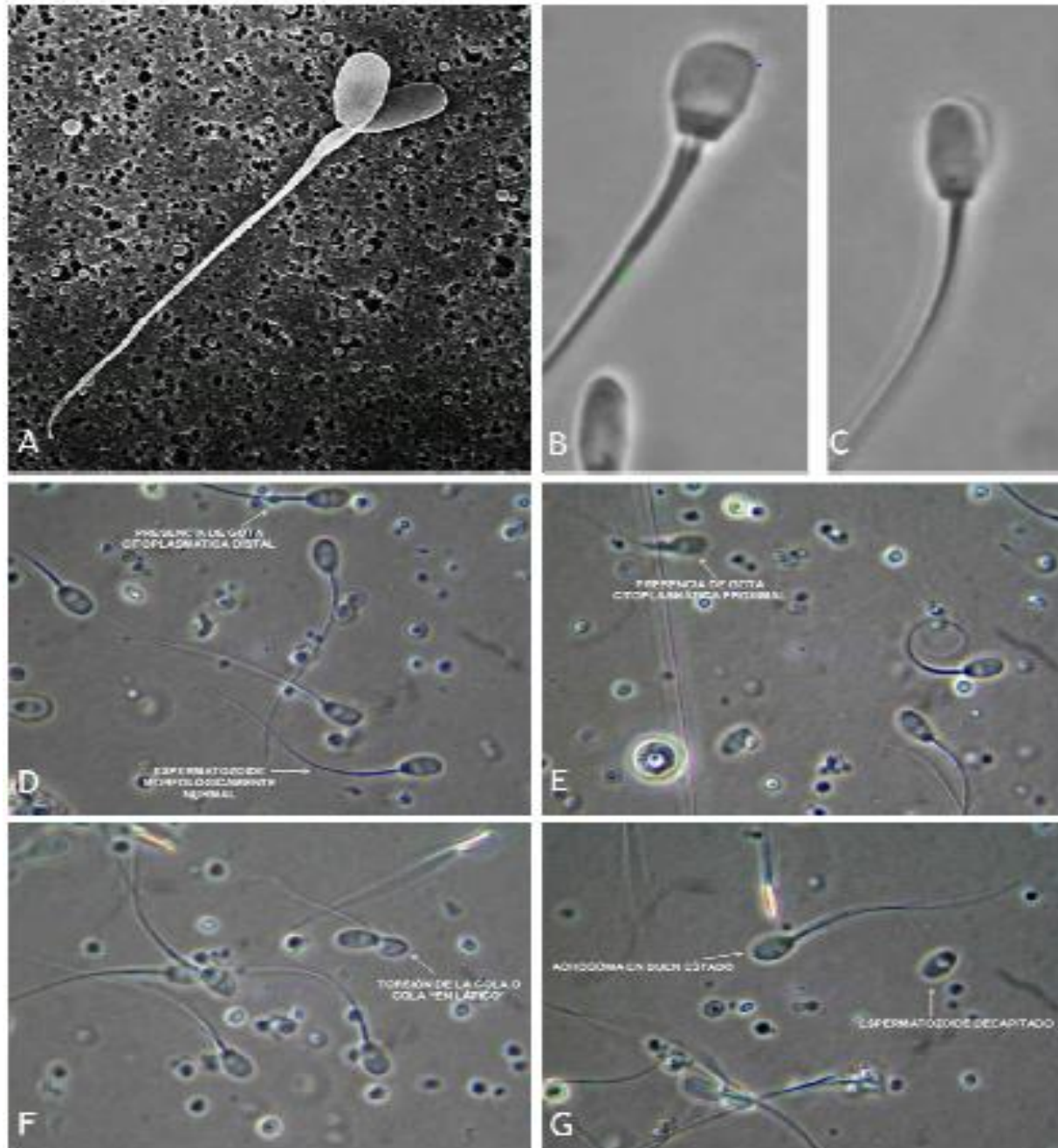
Tabla 5.

Anomalías morfológicas.

Cabeza	Tracto Intermedio	Cola
Macro cabeza	TI enroscado	Colas en ovillo
Micro cabeza	TI doble	Cola en látigo
Cabeza doble	TI engrosado	Colas dobles
Cabeza suelta	TI excéntrico	Colas flexionadas

Nota: Relación de anomalías morfológicas más comunes y región del espermatozoide a la que afectan.

Tomada de (Vizzarri et al., 2019).

Figura 1.*Microfotografías de espermatozoides*

Nota: Microfotografías de mostrando espermatozoides normales y anormales. (Sousa et al., 2013) A, espermatozoide con una doble cabeza; B, espermatozoide macrocéfalo; C, espermatozoide normal; D y E, gota citoplasmática distal (D) y proximal (E); F, espermatozoide con torsión de cola en látigo, y, G, espermatozoide decapitado.

3.5.2.4 Técnica de análisis de imagen asistido por ordenador: Sistema CASA

El análisis computarizado fue propuesto por primera vez hace 25 años y es usado actualmente en centros de reproducción asistida. El CASA (Computer assisted semen analysis) combina una cámara termostáticamente controlada (cámara de Makler) en la que se deposita una alícuota de semen y se mantiene la temperatura a 37°C durante el examen, para establecer una manera efectiva y de forma cuantitativas el movimiento individual de los espermatozoides. Es un sistema óptico con iluminación de contraste de fases, un detector de imágenes, un conversor digital, un sistema de computación y un monitor de video (Valverde, 2019) que permite medir el porcentaje de espermatozoides móviles, la velocidad de movimiento y descubrir sus trayectorias individualmente, facilitando no solo evaluar motilidad espermática sino también diferenciar subpoblaciones en relación al tipo de movimiento ofreciendo alta precisión en los resultados y mayor rapidez en el análisis, sin embargo, el sistema CASA es costoso y necesita una exacta calibración (Viquez et al., 2021).

A continuación, se presenta las variables de calidad para primer y segundo eyaculado en conejos, repostadas por de (Alvariño, 2000) para la especie cunícola (Ver tabla 6)

Tabla 6.

Principales características del semen de conejo en el primer y segundo eyaculado.

Parámetro	Primer eyaculado	Segundo eyaculado
Volumen (sin gel) (ml)	0,1-1,1	0,2-0,4
Volumen de gel (ml)	0,32-0,50	0,1-0,18
Eyaculado con gel (%)	54	15
Espermatozoides (millones/%)	280-1050	420-800
Motilidad de los espermatozoides (%)	58-90	57-87
Tasa de motilidad (0-5)	2,3-3,3	2-4,8
Aglutinaciones del espermato (0-5)	1,2-2,	0,8-1,6
pH	7,7-8,4	7,7-8,4

Nota: Estimación a partir de diversos estudios, con dos eyaculados por día de recogida y 15 minutos de intervalo, Tomado de (Alvariño, 2000).

3.6 Enriquecimiento de semen

El comportamiento sexual y la calidad seminal del macho disminuyen a medida que avanza su vida productiva generando cambios en el comportamiento sexual y calidad seminal; por otro lado, estos cambios también dependen de las épocas del año, la alimentación, el manejo, entre otras. Varios estudios que incorporan dietas o aditivos en la alimentación del animal y el uso de diluyentes naturales como método de conservación, logran obtener mejoras en la calidad seminal. (Moya Romero et al., 2020) Las frutas juegan un papel importante en la defensa antioxidante del cuerpo protegiendo el funcionamiento biológico de las células y aumentando su capacidad por la acción protectora (Jimoh Y Ayedun, 2020). Por ejemplo, Gerszberg et al., (2015) mencionan, que el tomate es un alimento protector por su particular valor nutritivo, ya que aporta nutrientes importantes como el licopeno, el betacaroteno, flavonoides, vitamina C y derivados del ácido hidroxicinámico (ver tabla 7) además este cultivo ha logrado enormes popularidades especialmente en los últimos años con el descubrimiento de actividades antioxidantes y funciones anticancerígenas del licopeno, el cual ha sido utilizado en procesos de biotecnología reproductiva para mejorar los valores de calidad seminal.

Tabla 7.

Análisis proximal de residuos de tomate deshidratado.

Ítems	%
Materia Seca	94,6
Proteína	20,93
Energía	10,22
Ceniza	14,37
Lignina	20
Celulosa	22
Hemicelulosa	13

Nota: Tomado de (Khedr y Abdel-Fattah, 2008)

3.6.1 Fuentes de Licopeno

El Tomate (*Lycopersicon esculentum*) es una fuente de fibra, proteína y grasa, rico en nutrientes y antioxidantes, como carotenos (licopeno y β -caroteno) y compuestos fenólicos, estudiado en temas de la salud humana y animal (Amer et al., 2021). Según, Mangiagalli et al., (2012) las propiedades antioxidantes y capacidad de eliminación de radicales libres del licopeno, ofrece beneficios sobre las características del movimiento espermático como resultado de su capacidad de amortiguación de especies reactivas de oxígeno- ROS, protegiendo contra el daño oxidativo estructuras cruciales para la actividad funcional de las células reproductoras masculinas.

Existen diversas funciones biológicas para este compuesto, entre ellas la regulación de procesos enzimáticos causando la elevación de Ca^{++} al dañar el flujo de entrada y exportar a través de la membrana plasmática, liberando reservas intracelulares de Ca^{++} a través de la vía apoptótica (Papadomichelakis y Fegeros, 2000). El aumento intracelular el Ca^{++} está relacionado con la hiperactivación del espermatozoide, que se caracteriza por la reducción de motilidad progresiva. Su uso es importante para la defensa antioxidante, convirtiéndose como una alternativa al uso de vitamina E, selenio, vitamina C, y ayudando a reducir el estrés oxidativo, así como, mejorando la movilidad de los espermatozoides (Amer et al., 2021).

En condiciones de campo, donde el ambiente no está perfectamente controlado, la suplementación con licopeno a través del agua potable o directamente el tomate podría proporcionar protección antioxidante para contrastar el estrés oxidativo, inclusive el licopeno podría tener una acción protectora mayor en el semen de conejo que en el de otras especies (Mangiagalli et al., 2012). Romero et al., (2020) recomiendan realizar más investigaciones sobre el papel de este antioxidante, ya que otros estudios demuestran efectos en la producción de semen

y el número total de espermatozoides, además de mejorar las características morfológicas y la viabilidad durante el almacenamiento del semen, contribuyendo a su uso e inseminación artificial de conejas reproductoras.

3.6.2 Diluyentes.

El objetivo del diluyente es aumentar el volumen disponible y el número de dosis obtenidas por eyaculado; además de ser un buen medio de dilución debe aportar sustancias capaces de mantener la vitalidad de los espermatozoides durante un periodo de tiempo suficiente que permita inseminar a un número elevado de hembras (Bustamante Filho et al., 2009). Por esta razón, ha sido indispensable establecer protocolos de conservación de semen, así como reconocer los diluyentes más adecuados para preservar las características seminales, reduciendo riesgos y costos con la adquisición y transporte de reproductores favoreciendo una rápida difusión de material genético entre lugares distantes (Kaka et al., 2015).

La elección de un diluyente no solo se realiza por sus fines productivos sino también por las implicaciones económicas de su uso buscando disponer de un producto económico capaz de conservar las cualidades del semen durante cierto tiempo (Dias De Oliveira et al., 2023) en la cunicultura no están definidos estos productos, comparado con otras especies doméstica, sin embargo se utilizan los diluyentes comerciales disponibles reaccionando de manera similar, aunque en algunos casos puede afectar su efectividad, dadas las particularidades de la especie (Rosato et al., 2006).

Según Purdy, (2006), un diluyente a utilizar en la conservación del semen debe contar con: un sistema tampón (fosfato de sodio, citrato de sodio, TRIS Trishidroximetilaminometano), TES (ácido N-tris(hidroximetil)metil 2-aminoetanosulfónico fuentes de energía (glucosa y fructosa), crio protectores externos (yema de huevo y leche) y crio protectores internos (glicerol - GLY y

etilenglicol - EG). Aksoy Y Cankat, (2010) recomiendan que la proporción de dilución sea superior a 1:2 (semen: diluyente) con el fin de reducir la concentración de espermatozoides y poder analizar fácilmente la motilidad y actividad masiva.

A diferencia de los espermatozoides de otras especies domésticas, la membrana plasmática del espermatozoide de conejo tiene una elevada relación colesterol/ fosfolípidos(0,88-1,56) ,y en relación con los fosfolípidos, una baja proporción de ácidos grasos poliinsaturados e insaturados; estas características producen una estructura de membrana plasmática con fluidez intermedia, logrando soportar mayor estrés ambiental (Blanco Bennet, 1977), por lo que los espermatozoides de conejo se caracterizan por su resistencia al “choque térmico”, siendo una característica positiva la implementación de la conservación a sub temperaturas (Moce Y Vicente, 2009).

Las temperaturas usadas en los procesos de refrigeración de semen de conejo han sido muy variables, desde 4 °C (Aksoy M. et al., 2010) y entre 5 °-15 °C (Di Iorio et al., 2014) como temperatura de mantenimiento para alargar la capacidad de conservación. Por otro lado, hay que tener en cuenta que no debe pasar más de 10-15 minutos desde la colecta de semen hasta la dilución, dado que sobre pasar este tiempo implica una disminución de la motilidad espermática (Lehimcioğlu, 2008).

En conejos se reporta el uso de una variedad de diluyentes para la refrigeración del semen, entre estos se encuentran Tris, ácido cítrico, glucosa, fructuosa y yema de huevo (Suárez et al., 2021). Sin embargo, no se disponen de estudios sobre la influencia de la composición de los diluyentes en las subpoblaciones espermáticas de esta especie. Existen estudios que relacionan los extractos e infusiones de frutas, verduras y semillas, las cuales cuentan con propiedades como crio conservantes y la capacidad antioxidante para proteger los espermatozoides del daño durante el proceso de crioconservación (Walis et al., 2017).

3.6.2.1 Componentes de los diluyentes naturales y artificiales.

Los diluyentes están constituidos por azúcares, sustancias buffer y sustancias orgánicas:

- **Azúcares**

Actúan como fuente de energía para los espermatozoides durante su almacenamiento, como es el caso de la glucosa y de la fructosa, además de, mantener e incrementar la presión osmótica de manera extracelular en el espermatozoide permitiendo la integridad de la membrana espermática (Fernando et al., 2006).

- **Sustancias buffer o amortiguadores**

Dan estabilidad a la membrana, y mantienen la tonicidad total del diluyente, lo cual es importante cuando el semen es almacenado por largos periodos de tiempo.

- **Sustancias orgánicas**

Previene el choque térmico por enfriamiento (Morales et al., 2013)

3.6.3 *Diluyentes Naturales*

Dentro de los diluyentes más usados en las investigaciones de la especie cunícola se encuentra un alto interés en el desarrollo de una nueva generación de diluyentes basados en productos naturales para minimizar el riesgo de contaminación de diluyentes sintético usando frutas que contienen antioxidantes naturales que demuestran un gran potencial en la extensión de semen de conejo y en la respuesta de la inseminación artificial (Kaka et al., 2015).

3.6.3.1 Agua de coco

Al usar agua de coco como método alternativo para la conservación de semen se debe tener en cuenta que la fruta este entre los 6 - 7 meses, con el fin de que este contenga una baja cantidad de Fosfolipasa A, dado que es una sustancia que produce la coagulación del medio y tiene efecto espermicida, reduciendo la motilidad y muerte espermática (Parada, 2019). El agua de coco es una

solución ácida y estéril, la cual contiene aminoácidos, azúcares, sales, proteínas, vitaminas, minerales, fosfolípidos y aminoácidos, favoreciendo la conservación del semen, con un pH de 4,5; se ha usado en el semen de conejo con varias tasas de dilución con el fin de garantizar la calidad de espermatozoides en cuanto a la movilidad y viabilidad (Romero et al., 2020). En la tabla 8 encontramos el contenido nutricional del agua de coco.

Tabla 8.

Contenido Nutricional del Agua de Coco.

COMPONENTE	CONTENIDO
Energía (Kcal)	354
Proteína (g)	3,3
Carbohidratos (g)	3,7
Lípidos (g)	0,05
Sodio (mg)	17
Potasio (mg)	440
Hierro (mg)	2,1
Calcio (mg)	13
Fósforo (mg)	0,4
Magnesio (mg)	52
Vit, B1, B2, B6, C, E (mg)	3,1

Nota: Tomado de (Bendaña, 2013)

3.6.3.2 Aloe vera y yema de huevo

La sábila contiene 13 de los 17 minerales necesarios para la buena nutrición del espermatozoide (Intriago Y Intriago, 2022), aporta 20 de los 22 aminoácidos conocidos, 8 de estos son esenciales, además contiene enzimas naturales necesarias para las células ya que regulan las rutas metabólicas de las vitaminas, minerales y hormonas (Carreño et al., 2022). La creatinina ayuda en las reacciones de almacenamiento y transmisión de la energía (Intriago Y Intriago, 2022).

La utilización de yema de huevo se usa para proteger las membranas espermáticas, acrosoma y mitocondrial de los espermatozoides al momento de presentar un shock por frío, esto

se da por la presencia de fracciones de lipoproteínas de baja densidad -LDF de la yema de huevo, preservando la motilidad espermática durante la refrigeración (Espinosa Y Walter, 2012). En la tabla 9 se encuentran los principales componentes del aloe vera.

Tabla 9.

Principales componentes del Aloe Vera.

Componentes	Beneficios
Aminoácidos	Interviene en la formación de proteínas.
Creatinina	Ayuda en reacciones de almacenaje y transmisión de la energía.
Minerales	Calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc, cobre.
Saponinas	Antiséptico.
Mucopolisacáridos	Responsables de la hidratación celular
Enzimas	Intervienen en la estimulación de las defensas del organismo.
Vitaminas	Hidrosolubles y liposolubles

Nota: Tomado de (David Y Vargas, 2012).

3.6.3.3 Jugo de Sandía

La sandía es una fuente de betacaroteno, vitamina C, glucosa, fibra y antioxidantes en altas cantidades, principalmente citrulina y licopeno (Khaki et al., 2013).considerándose un buen diluyente natural, dado que los carotenoides como el betacaroteno y el licopeno desempeñan un papel importante en la defensa antioxidante protegiendo la membrana plasmática contra la peroxidación lipídica (Kolawole T et al., 2019), transfiriendo electrón a los radicales libre por abstracción alélica de hidrógeno cuando se encuentra paralela a la membrana plasmática, inhibiendo significativamente los radicales libres (Oyeniran et al., 2021).

3.6.3.4 Leche descremada

Es un producto fabricado a partir de la reducción del contenido de grasa de la leche entera, ya sea de forma total o parcial a través de un proceso físico de separación que depende de las

densidades entre los glóbulos de grasa y la fase acuosa en la que están dispersos, calentada hasta una temperatura de 92-95°C durante 8-10 minutos, sin llegar a hervir, con el objetivo de anular los factores tóxicos de su fracción proteica (Trigoso, 2017).

La leche descremada es un líquido orgánico con propiedades biológicas que ayudan a la conservación de los espermatozoides, debido a que tiene la capacidad amortiguadora, bactericida, viscosidad adecuada y abundancia de carbohidratos que son utilizados para proporcionar energía, además de lactosa que le confiere su propiedad crio protectora (Díaz et al., 2014). Según Almenar, (2017), las micelas de las caseínas y la lactosa presente en la leche descremada son las principales responsables de disminuir los daños por enfriamiento y congelación ya que secuestran proteínas presentes en el plasma seminal que tras la eyaculación inducen la pérdida de colesterol y fosfolípidos de las membranas plasmáticas.

3.7 Conservación del semen

Desde el punto de vista de difusión de material genético, las ventajas que presenta la inseminación artificial con respecto a la monta natural aumentan cuando se dispone de diluyentes y protocolos adecuados para la conservación de los espermatozoides a una temperatura menor de 5°C (Rosato y Iaffaldano, 2011). Según Echegaray et al., (2004), el semen obtenido y evaluado como apto, requiere el procesamiento adecuado para garantizar la capacidad fecundante de los espermatozoides durante el tiempo que existe entre la eyaculación y su utilización para servir a la hembra, dado a que el semen no sobrevive a largos periodos, a menos que se haya añadido agentes protectores como los diluyentes, el deterioro se presentara afectando las membranas espermáticas y el ADN mitocondrial y nuclear.

La estrategia más común para prolongar la vida de los espermatozoides es la de disminuir o detener el metabolismo en forma reversible, de modo que una vez realizada la inseminación

ocurra la reactivación de los procesos metabólicos para la fecundación (Salvador et al., 2006), estas estrategias de conservación no solo dependen de la temperatura, también se ven afectadas en el manejo de conservación del semen, logrando obtener: semen en estado fresco, puro o diluido (de 30 a 37°C, por no más de 90 minutos); semen refrigerado (de 5 a 15 °C, hasta 12-24 horas) (Echegaray et al., 2004); semen congelado (-196 °C, por tiempo indefinido) (Vicente Y Viudes-de-castro, 1996).

3.7.1 Fresco

El semen fresco no presenta ningún tratamiento térmico y los espermatozoides se mantienen a temperatura ambiente es aconsejable realizar la inseminación artificial en las 4 primeras horas tras su obtención (Pinart et al., 2022); Una vez obtenido el eyaculado, se deberá mantener en baño maría a 30 °C, evitando cambios térmicos (Echegaray et al., 2004), el uso de diluyentes es con el fin de mantener la viabilidad de los espermatozoides y está estrechamente relacionado con el éxito de la inseminación artificial, además de aumentar la dosis, y por ende la cantidad de hembras inseminadas (Kaka et al., 2015).

3.7.2 Refrigerado

La preservación a bajas temperaturas en la especie cunícola resulta adecuada para periodos entre 12 y 24 horas. Durante los procesos de refrigeración de semen las principales variables que influyen en la distribución de las subpoblaciones son la temperatura, el tiempo y el diluyente utilizado, es decir cada eyaculado presenta una serie de subpoblaciones con características definidas y existen procesos que pueden afectar su distribución, generando cambios en la calidad del eyaculado y así afectando los resultados en la inseminación artificial (Echegaray et al., 2004).

Barbosa et al., (2020) proponen que se debe llegar a 5 °C en 2-3 horas, graduando el descenso de la temperatura, ya que los espermatozoides son especialmente sensibles al shock por

frio, además de mantener la temperatura adecuada durante todo el tiempo que demore su almacenamiento, teniendo en cuenta que a temperaturas superiores de 5 °C, la motilidad y metabolismo de los espermatozoides no están suficientemente inhibidos.

3.7.3 Congelación

La conservación de semen por congelación en la cunicultura no se ha desarrollado a gran escala, ni realizado un procedimiento respectivo ya que no suele usarse a nivel comercial, pero existen estudios de semen congelado relacionado con la fertilidad y el tamaño de las camadas (Vicente Y Viudes-de-castro, 1996).

El uso de semen congelado prolonga el tiempo de almacenamiento y amplía la distribución de mejoramiento genético, sin embargo, se han realizado varios estudios para mejorar la eficiencia reproductiva, evidenciando reducción en la motilidad, viabilidad, fertilidad y prolificidad (Viudes-De-Castro et al., 2014). Mocé Y Vicente, (2002) desarrollaron un protocolo rápido para congelar semen de conejo nueva zelandia blanco 30 min a 5 °C, y 15 min a –30 °C, utilizando pajillas de 0,25 mL, y un diluyente con Tris y ácido cítrico, obteniendo resultados de fertilidad del 79% y 8 nacidos en total ;sin embargo, los siguientes intentos de inseminar con este mismo protocolo, pero con algunas modificaciones como el cambio de tamaño de pajillas de 0,5 mL, y los tiempos de 45 min a 5 °C y 30 min a –30 °C , no dieron los resultados esperados ,alcanzando tasa de fertilidad del 50% y 6,9 nacidos en total.

3.7.4 Posición de la hembra

La hembra puede estar en posición dorsal o ventral y el proceso se puede realizar solo o con ayuda de una segunda persona (Soliman y El-Sabrou, 2020). La deposición del semen en el interior del tracto genital se realiza con un catéter curvado en un extremo o pistola de inseminación ,una vez preparada la coneja, se introduce el catéter con la curvatura hacia la parte dorsal, evitando

la entrada a la uretra, al pasar la cervix el catéter se gira 180°C y se prosigue unos centímetros más, se deposita el semen en el fondo de la vagina y se retira el catéter lentamente, realizando la manipulación con delicadeza, para evitar producir lesiones internas en (Davachi et al., 2022).

3.8 Inducción de la ovulación.

La coneja a diferencia de otras especies, presenta ovulación inducida dado que el proceso ovulatorio se refleja por impulsos neuro endocrinos generados durante el apareamiento (Davachi et al., 2022). En ausencia del macho debe ser inducida mediante la administración de hormonas en el momento de la inseminación. Para inducir la ovulación se utilizan las siguientes hormonas:

3.8.1 hCG o gonadotropina coriónica humana.

En las conejas induce la ovulación en el 98% de los casos, aunque presenta el inconveniente de generar anticuerpos bloqueantes de la ovulación a partir de la 4-5 inyección anulando su efecto, por lo que su uso para la práctica de la IA de forma sistemática es limitado, una dosis de 25 microlitros asegura la ovulación de la coneja (Armero et al., 2012).

3.8.2 GnRH o factor hipotalámico liberadora de gonadotropinas.

La dosis de aplicación varía dependiendo de la receptividad (color de la vulva), por lo general se aplican 20 µgr de GnRH a conejas con vulva roja o rosada, mientras que en la vulva color violeta es necesario duplicar la dosis (Zanagnolo et al., 1996), sin embargo, en conejas de vulvas violetas no turgentes y blancas el problema está en vías de solución, ya sea aplicando dos dosis de 20 µgr de GnRH separadas 2,5 horas o intentando modificar el nivel de receptividad sexual de estas conejas con otras hormonas (FSH y PMSG) aplicadas tres días antes de la inseminación artificial (Torres et al., 1989).

La administración se puede hacer vía intramuscular, subcutánea, intravenosa o intravaginal, siendo la administración intramuscular el método más utilizado (Sala et al., 2022), sin embargo, el uso de la GnRH tiene un costo comercial elevado (Andrade et al., 2022).

Rodríguez et al., (2022), señalan que como parte fundamental de la técnica de inseminación Artificial en conejas se debe realizar la inducción de la ovulación inmediatamente después del servicio vía intramuscular de factores liberadores de hormonas gonadotrópicas (GnRH).

3.9 Inseminación Artificial

La inseminación artificial es un método que permite el establecimiento de un nuevo sistema de producción: "gestión de bandas", buscando alternativas para una máxima utilización de sementales, sincronizando los días de nacimiento, control de enfermedades, además de optimizar el rendimiento de mano de obra cualificada (Lankri, 2020), convirtiéndose es una técnica popular en las granjas de conejos, contribuyendo a la mejora genética mediante la evaluación y difusión de machos de alto valor genético (Jimoh Y Ayedun, 2020). Esta debe realizarse con semen fresco para mantener unas tasas de fertilidad elevadas, ya que ni el semen refrigerado ni el congelado permiten obtener resultados completamente satisfactorios (Bresciani et al., 2016) a contrario a otras especies. Con este método, es posible obtener tasas de concepción equivalentes o incluso superiores a las obtenidas con la monta natural, es por ello imprescindible evaluar la calidad de las dosis seminales para eliminar aquellos eyaculados que puedan presentar una fertilidad reducida (Lopez y Alvarino, 1998).

4. Metodología

4.1 Ubicación:

La investigación se realizó en la unidad productiva Ch'íxi Grandin de la Universidad Industrial de Santander, Sede Málaga, ubicada a una Latitud 6,70666° o 6° 42' 24" norte con una Longitud -72,72833° o 72° 43' 42" oeste con una temperatura promedio de 19°C y una humedad relativa de 71%; esta unidad está conformada por diferentes producciones con enfoque investigativo, entre ellas la producción Cunícola y Avícola.

Los procedimientos de evaluación, dilución, inseminación artificial se llevaron a cabo en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Sede Málaga y en el Laboratorio de Biotecnología Reproductiva y Sanidad animal del Centro Agroempresarial y Turístico de los Andes

-La granja de los Andes SENA.

4.2 Animales

Para este estudio se seleccionaron diez (10) conejos mestizos y seis (6) hembras mestizas de una edad promedio de 7-18 meses, con fertilidad comprobada mediante apareamiento natural. Los individuos se mantuvieron en un sistema intensivo, en jaulas individuales 0,80 * 0,60 * 0,45 m con exposición a luz natural; no se empleó ningún régimen de alimentación especial y se proporcionó agua ad libitum; en cuanto a las hembras se les tomó en cuenta su estado reproductivo y se les suministró concentrado Itálcol, de la siguiente manera: gestantes 150g, lactantes 280g.

Los machos tuvieron un mes de acostumbramiento al manejo y a la vagina artificial, iniciando la investigación desde el mes de junio hasta el mes de agosto.

4.3 Tratamientos

Los 10 machos seleccionados, se dividieron en dos grupos To : 5 animales para tratamiento control y T1: 5 animales para tratamiento con licopeno. Los animales fueron alimentados con un

forraje verde 150g de concentrado por día; el T1 fue suplementado con 65g de tomates deshidratado como fuente de licopeno. Todos los machos fueron colectados cada 3 días durante 5 semanas, separando primero y segundo eyaculado.

4.3.1 Métodos de análisis de semen.

Los eyaculados obtenidos por los machos se sometieron a una valoración macro y microscópica, realizadas en el laboratorio de reproducción de la Universidad Industrial de Santander, Sede Málaga y el laboratorio de Biotecnología Reproductiva y Sanidad Animal del Centro Agroempresarial y turístico de los andes SENA. Para el mantenimiento de los eyaculados se mantuvo en baño maría y las láminas y laminillas se calentaron en una placa a 37°C mientras se realizó la valoración del aspecto físico: volumen (ml), color, y presencia de gel. El análisis microscópico incluyó la motilidad masal (0-5) colocando una gota de semen puro en un portaobjeto atemperado a 37°C y se observó al microscopio en un objeto de 4X, la Motilidad Individual progresiva (%) se evaluó con una muestra diluida 1:20 en solución salina NaCl 0.9% a una temperatura de 37°C y se observó a 10X; el porcentaje de anomalías, se determinó mediante lectura en placa, mediante la tinción de eosina-nigrosina observados en el microscopio a 100. La concentración espermática fue calculada usando el equipo CASA Androvision® (Computer-Assisted Semen Analyzer), en el laboratorio de Biotecnología Reproductiva y sanidad animales de la granja los Andes, se toman 10 micras del semen diluido y se colocan en la lámina a temperatura a 37°C y se procedió a realizar el análisis teniendo en cuenta 4 campos diferentes.

4.3.2 Preparación de Diluyentes.

Para el diluyente de Agua de Coco se extrajo 20 ml de agua, se calentó a 105°C durante 5 minutos y se agregó 0,02 gr de penicilina sódica junto con agua destilada 10 ml; para el diluyente de jugo de sandía, se exprimió fruta madura y se sometió a centrifugación a 3000npr por 15

minutos; para el diluyente de Triladyl con Yema de huevo, se mantuvo una proporción 3:1:1, usando agua destilada, yema de huevo y Triladyl respectivamente, se dejó reposar 30 minutos y se sometió a centrifuga a 3000rpm por 10 minutos; en cuanto al diluyente de leche descremada se utilizó leche comercial y se almaceno a 5°C hasta su uso.

4.3.3 Protocolo de Inseminación Artificial

Se utilizó un pool de semen diluido en Leche descremada y se realizó la inseminación artificial a 6 hembras mediante el uso de pistola de inseminación e inducción de ovulación con una única dosis de 0.2 ml de GnRh vía intramuscular.

4.4 Análisis estadístico

Se analizaron 3 variables macroscópicas (Aspecto-Color-Volumen) y 3 variables microscópicas (Motilidad-Morfología-Concentración), Los datos se tabularon mediante el paquete Excel 2016®. Se uso la prueba t-student para determinar si hubo diferencias significativas en la calidad seminal al usar licopeno con una confianza del 95%; así mismo, se utilizó un modelo completamente al azar de medidas repetidas mediante un análisis de varianza ANOVA para determinar el tiempo de conservación de cada diluyente empleado y la prueba Tukey para la comparación de medias.

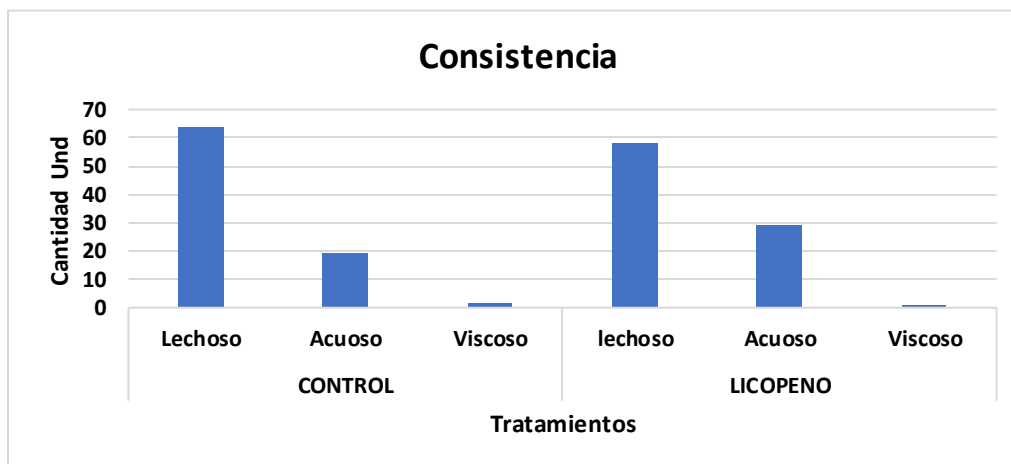
5. Resultados y Discusión

Objetivo 1. *Determinar el efecto de la inclusión de tomate como fuente de licopeno sobre las variables de calidad seminal durante los cambios de dieta en la producción cunícola.*

El tomate como fuente de Licopeno incorporado como suplemento alimenticio en conejos mestizos no alteró el aspecto seminal (coloración y consistencia seminal) predominando la coloración blanca y la consistencia lechosa (Grafica 1). Resultados similares fueron obtenidos por Romero et al., (2020) con adición de semillas de linaza en una dieta para conejos, observando un color blanco y consistencia acuosa. Según Campos, et al., (2012), la consistencia lechosa representa la normalidad en esta especie, demostrando que es semen de buena calidad, además menciona que se pueden presentar otras coloraciones y consistencias como la acuosa-color amarillo cítrico que demuestran una menor concentración espermática.

Grafica 1.

Consistencia de semen fresco de conejo en primer y segundo eyaculado.



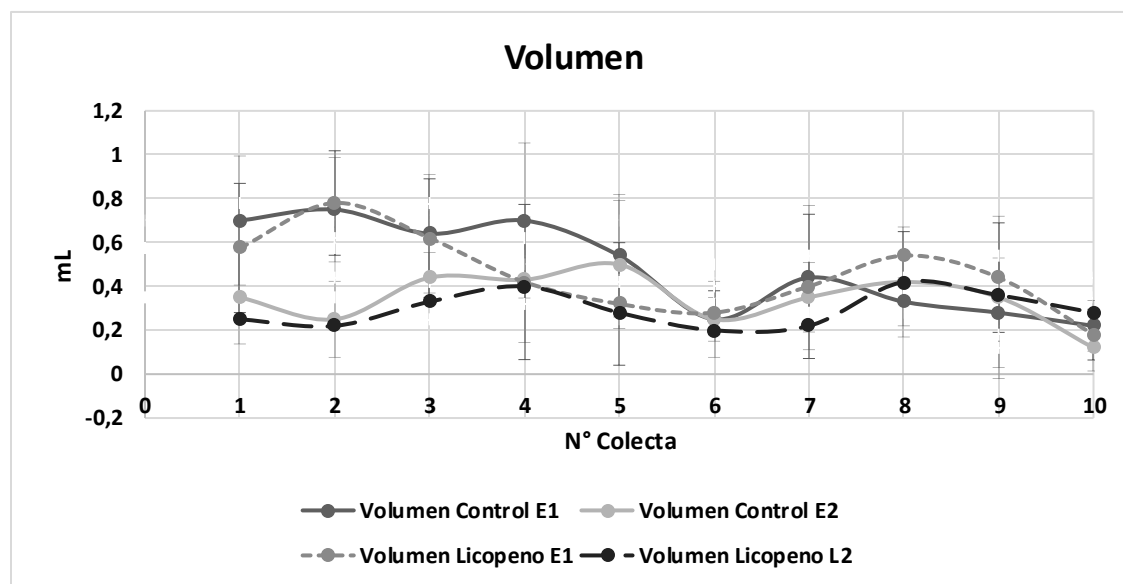
Fuente: Elaboración Propia

La presente investigación no mostró diferencia significativa entre tratamientos ($p=0,13$) para volumen seminal con valor medio de $0,60 \pm 0,24$ ml, así mismo, se logró observar que el número de eyaculado y la suplementación con Licopeno no genera ningún cambio a partir de la 6

semana (Grafica 2). Un estudio realizado por Gliozzi et al., (2009) quienes evaluaron el aceite de pescado como fuente de Vitamina E en la suplementación de dietas de conejo y sus efectos en la calidad seminal, encontró en sus resultados menores volúmenes en el eyaculado que el de esta investigación, sin embargo, Mangiagalli et al., (2012) si obtuvo cambios a nivel de volumen, obteniendo cantidades más altas de eyaculado en conejos suministrando licopeno en agua ad libitum en promedio de $0,84 \pm 0,14$ ml, de igual modo, Yousef, (2003) obtuvo una variación significativa de $0,85 \pm 0,1$ ml en conejos machos suplementados con vitamina E.

Grafica 2.

Volumen de semen fresco de conejo.



Nota: Volumen Control: Animales alimentados normal, Volumen Licopeno: Animales suplementados con tomate deshidratado como fuente de licopeno, E1: Primer Eyaculado, E2: Segundo Eyaculado.

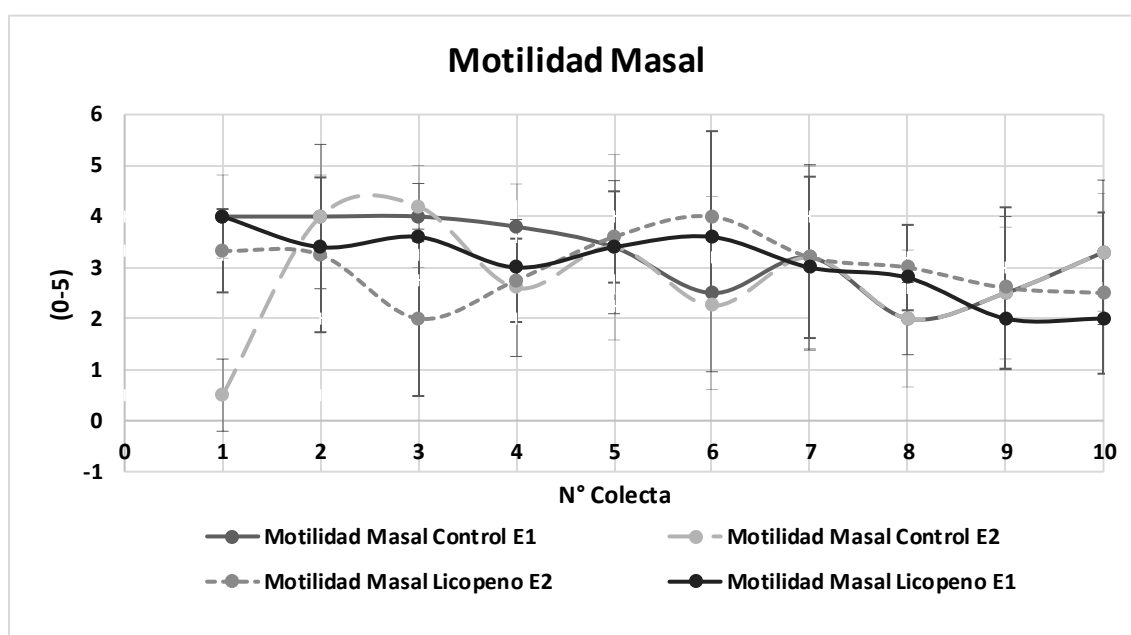
Fuente: Elaboración Propia.

Para Motilidad Masal no se encontró diferencia significativa ($p=0,419$) con un valor medio de $3,19 \pm 1,7$. Existe un trabajo conducido por Campos et al., (2012) en el que evaluaron la

calidad seminal de conejo suplementado con jalea real (0,5 y 1,0 gramos), siendo la jalea real fuente de ácido graso omega-3, entre los resultados, se encontraron valores de $3,33 \pm 1,12$ y $3,11 \pm 1,17$, los cuales son similares a los de esta investigación, lo que permite caracterizar una buena calidad seminal.

Grafica 3.

Motilidad Masal de semen fresco de conejo.



Nota: E1: Primer Eyaculado, E2: Segundo eyaculado.

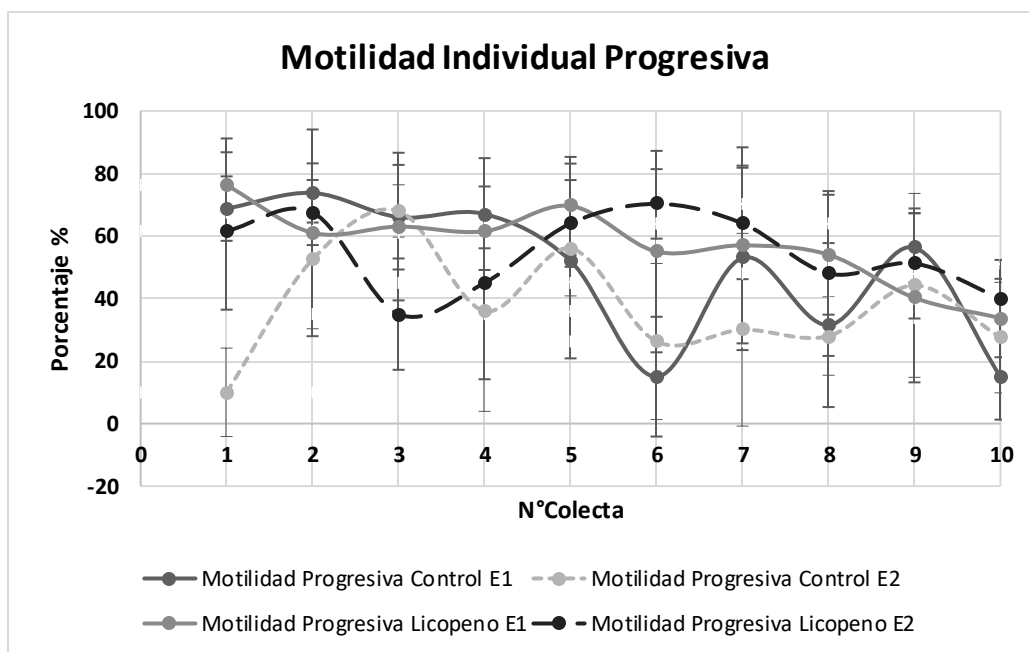
Fuente: Elaboración Propia.

Para motilidad espermática si se presentaron diferencias entre tratamientos ($p > 0,03$) obteniendo una media de $46,10 \pm 9,2\%$ para tratamiento control y $56,52 \pm 8,3\%$ para tratamiento con licopeno, lo que quiere decir que el licopeno si mejora la calidad espermática, aunque, a partir de la 6 semana al igual que el tratamiento control comienza a disminuir (ver Grafica 5), resultado similar encontrado por Bintara et al., (2022), quienes encontraron una diferencia significativa entre tratamientos mostrando que el suministro de tomate como fuente de licopeno promueve significativamente la motilidad. Sin embargo, sus resultados fueron mayores a los nuestros

manteniendo los valores de motilidad durante el tiempo de estudio $83,2 \pm 0,40\%$. Una investigación de Mangiagalli et al., (2012), evidenció que la adición de licopeno no tuvo un efecto significativo en la motilidad de semen de conejo obteniendo un valor promedio de $54,2 \pm 0,64 \%$ en los tratamientos, los mismos resultados fueron encontrados en un estudio en aves domésticas (Mangiagalli et al., 2010). Así mismo, Jimoh y Ewuola, (2018) consideran que la motilidad espermática disminuye de forma significativa cuando la temperatura ambiental se evalúa por encima de 27°C , lo que dificulta alcanzar una óptima capacidad reproductiva. No obstante, en nuestra investigación se observó que el licopeno ayuda a mejorar el comportamiento de monta, encontrando animales con mejor actitud reproductiva, dato reflejado en la calidad espermática y morfología del espermatozoide.

Grafica 4.

Motilidad Individual Progresiva del semen fresco de conejo.

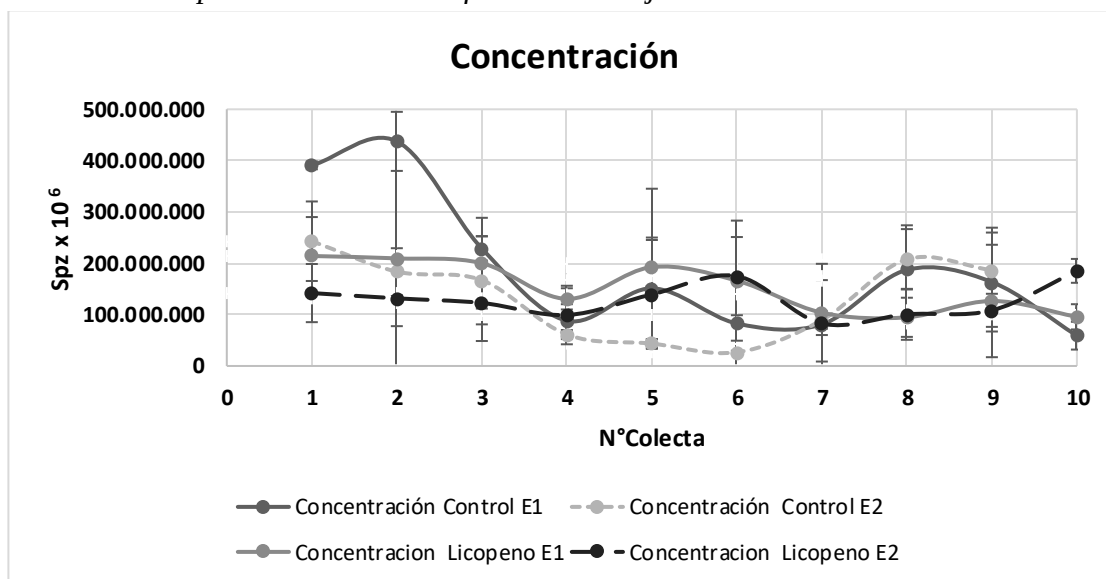


Fuente: Elaboración Propia.

Para concentración espermática no se observaron diferencias significativas ($p=0,17$), con valor medio de $169,61 \pm 15,7 \times 10^6$ spz/ml (Ver grafica 5) siendo un rango menor al encontrado por Lopez Y Alvarino, (1998) estando en el rango de $150 - 900 \times 10^6$ spz/mL, con una media de 250×10^6 spz/mL. Asimismo, Mangiagalli et al., (2010), encontraron un efecto positivo significativo del licopeno suplementado en aves domésticas sobre la concentración espermática. Yousef, (2003), demostró que en conejos machos suplementados con vitamina E existía una mejora significativa del eyaculado. Por otro lado, Castellini et al., (2003) evidenció un efecto positivo en cuanto el volumen y la concentración en conejos suplementada con vitamina E y C, evidenciando valores promedio de $400 \pm 5,3 \times 10^6$ spz/mL. Por otro lado, Andreazzi et al., (2004) usando la inclusión de aceites de canola 3%, maíz 3% y soya 3% en unas dietas para conejos, obtuvieron mayor volumen de semen y mayor cantidad de espermatozoides.

Grafica 5.

Concentración espermática de semen fresco de conejo.



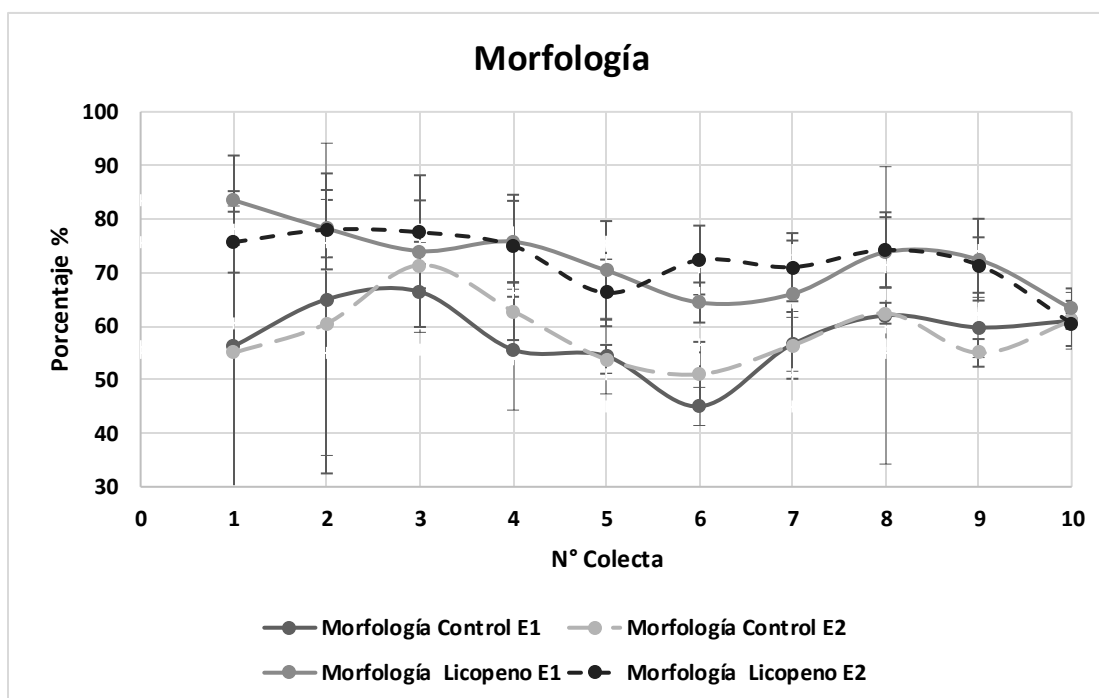
Nota: E1: Primer Eyaculado, E2: Segundo Eyaculado.

Para las alteraciones morfológicas espermáticas del semen fresco se observó una diferencia significativa ($p>0,05$) obteniendo valores de normalidad del 58,13% para tratamiento control y 72% para tratamiento con Licopeno, reflejados en las semanas 1 y 6. Así mismo, se evidencio una media de $27,6 \pm 6,4\%$ de anormalidades, teniendo en cuenta defectos mayores y menores. La patología de defectos primarios más observada en este experimento fue cola doblada de $14,2 \pm 2,6\%$ y cola enrollada de $2,75 \pm 1,5\%$ en comparación a la totalidad de estos, siendo similar a lo encontrado por Campos, et al., (2012).

Los valores hallados se encuentran dentro de los mencionados por Foote, (2000) quien describe que un 75% de morfología espermática normal, es lo ideal en la especie cunícola.,

Grafica 6.

Morfología de semen fresco de conejo.



Nota: E1: Primer Eyaculado, E2: Segundo Eyaculado.

En todas las investigaciones que han sido estudiadas se encontró que el licopeno reporta un efecto potencial frente a la calidad de los espermatozoides en cuanto a sus características, estructuras y función, comparado con otros antioxidantes como Vitamina E, Vitamina C y Selenio; mostrando que se puede mejorar la calidad seminal de un reproductor con productos agrícolas que encontramos en nuestra región, disminuyendo el uso de suplementos artificiales y de elevado costo. Por otro lado, se logra evidencia que, a partir de la sexta semana en cada una de las variables evaluadas, el licopeno representa su mayor efecto en la mejora de la calidad seminal ya que en esta semana es posible que exista una similitud entre el número de días que se le suministra tomate deshidratado como fuente de licopeno y la duración de la espermatogénesis, donde el espermatozoide sufre una serie de cambios morfológicos y funcionales durante su maduración.

Además, se evidenció que el eyaculado 2 puede ser de mayor calidad en comparación a el eyaculado 1, dando a entender que para dar un resultado acerca de la calidad seminal de un reproductor es necesario evaluar como mínimo 2 eyaculados seguidos.

Objetivo 2. *Evaluar el uso de diluyentes naturales como método de conservación a una temperatura de 5°C*

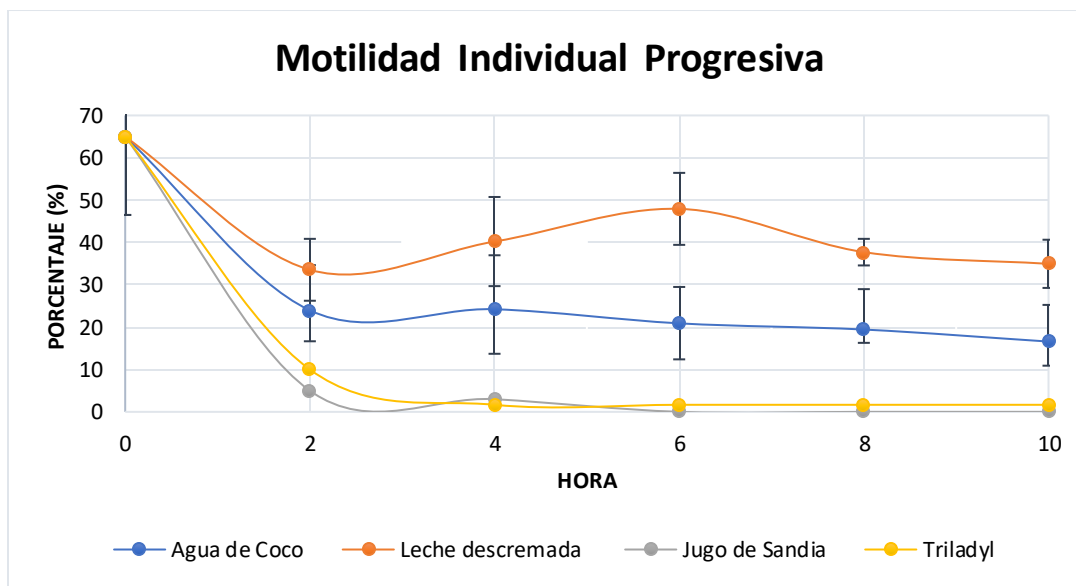
Se determinó que al usar diluyentes naturales como leche descremada y agua de coco se obtiene una mayor conservación de la calidad del semen con 43,23 y 28,23 % de motilidad respectivamente cuando está en condiciones de refrigeración a 5°C en comparación a los demás diluyentes estudiados. El almacenamiento prolongado de semen de conejo en condiciones de refrigeración, causa el deterioro gradual de la calidad y las características del mismo, así como, una disminución en su fertilidad (López et al., 2005; Roca et al., 2013).

Se conoce que el uso de leche descremada ultra-pasteurizada (UHT) para la dilución del semen de conejo arroja valores superiores de espermatozoides móviles y con membrana plasmática intacta y funcional (Iaffaldano et al., 2010),coincidiendo con la presente investigación donde el diluyente de leche descremada mostró mejores resultados y mantuvo la calidad seminal en el transcurso de las 10 horas evaluadas.También, podría ser explicado por el aporte antioxidante de la leche descremada, dado que se ha informado de su capacidad para compensar la pérdida de la protección antioxidante no enzimática del semen (Hozbor et al., 2016).

Por otro lado, Romero et al., (2020) afirman que el uso de diluyentes a base de dextrosa, citrato sódico y acetato potásico provee una mayor capacidad de conservar la calidad seminal del conejo sometido a refrigeración, favoreciendo la inseminación artificial en esta especie, dado el corto periodo que se puede almacenar el semen de conejo.

Grafica 7.

Evaluación de Motilidad Individual con diferentes diluyentes como método de conservación refrigerado a una temperatura de 5°C.



Nota: Evaluación de motilidad Individual Progresiva de semen de conejo, en 4 diluyentes naturales, como método de conservación refrigerada, evaluados cada 2h con el sistema CASA

Fuente: Elaboración Propia.

En nuestra estudio se evidenció la capacitación de los espermatozoides después de 30 minutos de diluidos con solución salina, sin embargo, no se encontró un estudio reciente que hable sobre este tema, es por eso que nos basamos en la información dicha por Castellini,(2008) quien demostró que, el espermatozoide de conejo contiene una gran cantidad de partículas secretadas por diferentes glándulas que parecen desempeñar un papel importante en la capacitación espermática y la reacción acrosómica del espermatozoide, debido a que esta vesícula está rodeada de un material denso de electrones, así mismo, actúan como donantes de esteroides para proteger los espermatozoides contra choque ambiental.

Objetivo 3. *Establecer la eficiencia en los procesos de reproducción asistida en conejas mestizas utilizando semen enriquecido con licopeno.*

Se comparó la fertilidad de los conejos por monta natural e inseminación artificial obteniendo como resultado, que los animales apareados mediante monta natural alcanzaron mayor fertilidad 100% en comparación a la Inseminación Artificial 33%. Sin embargo, no se logró evidenciar la tasa de natalidad debido a la presentación de abortos. Romero Y Tiparra, (2018), obtuvieron 66,6% de fertilidad en conejas inseminadas con semen fresco usando como diluyente leche descremada. Así mismo, Parra Y Aguilar, (2022) obtuvieron valores de fertilidad de 66% usando leche descremada como diluyentes y un tamaño de camada de $3,66 \pm 2,1$. Por otro lado, Suárez et al., (2021), encontró que la fertilidad entre monta natural e inseminación artificial fue de 71.6% y 66.1% respectivamente, datos mayores a los encontrados en este estudio.

Tabla 10.*Fertilidad de Hembras Inseminadas.*

	MONTA NATURAL	INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
Número De Hembras	6	6
Número De Hembras Gestantes	6	2
Número Abortos	0	2
% Fertilidad	100	33

Nota: Elaboración Propia

Los resultados de esta investigación se deben a que, en la especie cunícola, al realizar la inseminación artificial es necesario un efecto tampón de copulación que impide la salida de los espermatozoides, ayudando a mantener el pH adecuado y proteger la viabilidad del espermatozoide, siendo un factor importante para mantener las condiciones óptimas y mejorar las tasas de fertilidad. Además, de existir varios estudios con diferentes métodos que coordinan el ciclo reproductivo de la hembra, tales como: manejo de fotoperiodo, uso de hormonas, introducción de machos sincronizados. Sin embargo, estos métodos no aseguran la fertilidad y prolificidad de la hembra.

Por otro lado, la temperatura ambiental en la que se encuentran los animales, es un factor que contribuye a la baja fertilidad en la cunicultura, debido a una reducción en el rendimiento reproductivo asociado con la disminución de la capacidad termorreguladora de las hembras generado por un estrés térmico y metabólico.

6. Conclusiones

La inclusión de licopeno en conejos no altero los parámetros físicos y microscópicos del semen fresco, pero si mejoro lo rendimiento reproductivo de la calidad del semen, obteniendo mejoras significativas en la Motilidad Individual Progresiva y Morfología, en comparación con el tratamiento control, además de evidenciar menor estrés en los animales y mayor aptitud de monta.

La calidad espermática del semen de conejo refrigerado obtuvo los mejores resultados al usar Leche descremada en comparación con los demás diluyentes naturales, además de comprobar que el Triladyl no responde de igual manera en el semen de conejo en comparación de las demás especies; sin embargo, a pesar de la cantidad de diluyente que existen en el mercado, para la especie cunícola no existe uno con exactitud.

Los diluyentes compuestos por leche descremada, azúcares y caseinatos de sodio, son una alternativa apropiada para la conservación de semen de conejo en condiciones de refrigeración protegiendo de forma más eficiente los espermatozoides, dado que favorecen el mantenimiento prolongado de los parámetros cinéticos de los espermatozoides y la prevalencia de subpoblaciones espermáticas con características superiores de velocidad y progresividad, además de ser un diluyente de composición definida.

7. Recomendaciones

Seguir realizando estudios investigativos a la especie cunícola, ya que existen muchos factores que se pueden tener en cuenta; asimismo, es una especie que en los últimos años ha venido creciendo en nuestro país, teniendo un futuro comprometedor en para la alimentación humana.

Ampliar el uso de Biotecnología Reproductiva en la cunicultura, ya que existe un gran desconocimiento acerca del material genético con el que se cuenta en el país, y las características seminales que tiene el conejo, además de no existir un diluyente o método de conservación seminal.

Realizar la inseminación artificial con un mayor número de hembras con el fin de obtener un resultado más claro y preciso acerca de esta técnica reproductiva.

8. Referencias Bibliográficas.

- Adeyemi, A. A., Ibrahim, O. W., Ajayi, O. O., & Ayeni, S. T. (2021). Semen indices, growth response and sperm reserve of male rabbits fed zinc supplemented diets. *World Rabbit Science*, 28(4), 199-206. <https://doi.org/10.4995/wrs.2020.13507>
- Alarcón, M. B. (2023). Universidad De Murcia Escuela Internacional De Doctorado Tesis Doctoral.
- Allende, R., & Arisnabarreta, E. (2003). Fisiología espermática, producción de semen y evaluación de la calidad seminal.
- Alvariño, J. M. R. (2000). Reproductive Performance Of Male Rabbits.
- Alzate, C., & Torres, V. (2021, octubre 26). Evaluación de parámetros zootécnicos en un sistema de producción cunícola en la Granja Román Gómez Gómez, ubicada en Marinilla, Colombia.
- Amer, F., Elkassas, N., Salim, I., El-Medany, S., Aboelenin, S. M., Shukry, M., Taha, A. E., Peris, S., Soliman, M., & Mahrose, K. (2021). Impacts of dietary supplementations of orange peel and tomato pomace extracts as natural sources for ascorbic acid on growth performance, carcass characteristics, plasma biochemicals and antioxidant status of growing rabbits. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061688>
- Andreazzi, M., Scapinello, C., Vanini De Moraes, G., Garcia De Faria, H., Michelan, A., & Georg, P. (2004). Avaliação da qualidade do sêmen em coelhos alimentados com rações contendo diferentes fontes de óleos vegetais.
- Aragon, S. (2019). Características Macroscópicas, Microscópicas, Estimación De Parámetros De Motilidad Y Determinación De Subpoblaciones Espermáticas En Semen De Cuy (*Cavia porcellus*).

- Arencibia, D. F., y Fernández, L. A. (2009). Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de conejo aplicado en estudios de toxicología de la fertilidad. *Revista Electrónica de Veterinaria* , 3. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63617143011.pdf>
- Arencibia, M., y Fernandez, L. (2009). Practice considerations about the semen quality of rabbits for applied in fertility toxicology study. *Revista electronica de Veterinaria*, 10(8). <https://www.redalyc.org/pdf/636/63617143011.pdf>
- Argudo, D., Eras, A., Alvarado, J., Moscoso, A., y Veloz, D. (2022). Evaluación seminal de conejos sometidos a un programa de iluminación continua. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 30(Sup. 2), 103-105. <https://doi.org/10.53588/alpa.300619>
- Asibor, P. E., Omoyakhi, J. M., y Musa, O. O. (2022). Comparative Study of Semen Collection from Rabbits Using Locally Assembled and Conventional *Artificial Vaginas*.
- Barbosa, B., dos Santos, F. A., do Macêdo, L. B., Izzo, R. G., Fernandes, D. P., Praxedes, É. A., Rodrigues, S., y Bezerra, M. (2020). Effect of supplementation of Aloe vera extracts in cold storage media and cryopreservation of domestic cat epididymal spermatozoa. *Animal Reproduction*, 17(1), e20190067. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0067>
- Battaglini, M. (2017). . L'insemination artificiellechez la lapine. Cuniculture. *PET ELEVAGE*, 13(5), 230-234. <https://www.petelevage.com/blog/recolte-du-sperme-de-lapin-et-insemination-artificielle>.
- Bozbiyik, C. (2022). Investigation of male genital system anatomy in the New Zealand rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Anatomia Histologia Embryologia*. <https://doi.org/10.1111/ahe.12897>

- Brun, J. M., Theau-Clément, M., & Bolet, G. (2002). Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Animal Research*, 51(5), 433-442. <https://doi.org/10.1051/animres:2002030>
- Campos, P. K. A., Barbosa, L. P., Naves, M. M., Melol, B. E. S., Morais, A. C. T., & Morais, D. B. (2012). Qualidade seminal e morfometria testicular de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) suplementados com geleia real. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(6), 1563-1568. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000600023>
- Campos, P. K. A., Barbosa, L. P., Neves, M. M., Melo, B. E. S., Morais, A. C. T., & Morais, D. B. (2012). Qualidade seminal e morfometria testicular de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) suplementados com geleia real [Seminal quality and testicular morphometry of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) supplemented with royal jelly]. En *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v (Vol. 64, Número 6).
- Castellini, C. (2008). Semen production and management of rabbit bucks. <https://www.researchgate.net/publication/228623034>
- Castellini, C., Lattaioli, P., Cardinali, R., & Dal Bosco, A. (2006). Effect of collection rhythm on spermatozoa and droplet concentration of rabbit semen. *World Rabbit Science*, 14(2), 101-106. <https://doi.org/10.4995/wrs.2006.551>
- Catellini, C., Lattaioli, P., Cardinali, R., & Dal Bosco, A. (2007). Validation Of A Spectrophotometric Method Used For The Measurement Of Spermatozoa Concentration In Rabbit Semen. *World Rabbit Science*, 15, 115-119. <https://polipapers.upv.es/index.php/wrs/article/view/599/586>

- Cherfaoui, D., Theau-Clement, M., Zerrouki, N., & Berchiche, M. (2013). Reproductive performance of male rabbits of algerian local population. *World Rabbit Science*, 21(2), 91-99. <https://doi.org/10.4995/wrs.2013.1173>
- Chikaodiri, H. (2020). Reproductive Physiology of Male Rabbits: A Key Factor in Buck Selection for Breeding. *Advances in Reproductive Sciences*, 08(02), 97-112. <https://doi.org/10.4236/arsci.2020.82009>
- Cortes, S., Hurtado, D., & Pineda, A. (2019). Manual of good farming practices (BPP) for the production of rabbit meat in Colombia. <https://core.ac.uk/download/288157980.pdf>
- Costa, E., Guerino Macedo, ,G., Pereira, E., Paulino da Costa, E., Helena Assis da Costa, A., & César Martins Pereira, E. (2011). Artificial Insemination in Swine. <https://www.researchgate.net/publication/221912905>
- Criado, C. M., & Deháquiz, J. (2019a). Modelo de producción cunicola:alternativa de seguridad alimentaria para familias rurales del municipio de Sogamoso. 27. https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento_accion/article/view/10487
- Di Iorio, Michele., Manchisi, Angelo., Rocco, M., Chrenek, P., & Iaffaldano, N. (2014). Comparison of different extenders on the preservability of rabbit semen stored at 5°C for 72 hours. *Italian Journal of Animal Science*, 13(4), 710-714. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3444>
- Di lorio, M., & Colonna, M. (2018). Initial cooling time before freezing affects post-thaw quality and reproductive performance of rabbit semen. *Animal Science Journal*.
- Dias De Oliveira, N., Caires, P., Cristine, F., Fernandes, C., Dias, C., & Albeny, L. (2023). Eficiência De Três Diluidores Inespecificos Na Refrigeração Do Semen De Coelho

- (*Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*). *Veterinaria e Zootecnia* .
<https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/1368>
- Dolores, e., & Perez, T. (1993). Inseminación artificial en conejas: resultados de fertilidad y prolificidad. *acta veterinaria*, 6, 31-36.
- Echegaray, J., Olvera, J., & Salcedo, R. (2004). Quality And Fertility Of Preserved Rabbit Semen At 15° C, In Gelatin Supplemented Extender. *World Rabbit Congress*, 258-263.
<http://www.world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2004-Puebla/Papers/Reproduction/R-Echegaray.pdf>
- Ewuola, E. O., Adisa, H. O., & Opesomowo, A. O. (2022). Semen characteristics and reproductive performance of rabbit bucks administered carrot seed powder. *Nigerian Journal of Animal Production*, 49(3), 34-42. <https://doi.org/10.51791/njap.v49i3.3574>
- Feknous, N., Belabbas, R., Zenia, S., & Berbar, A. (2021). Study of Anogenital Distance in Rabbits: Effect on Sexual Behavior and Litter Size Biological Components. En *Veterinarija ir Zootechnika* (Vol. 79, Número 1).
- Ferrian, H. (2007). Influencia de las características seminales del eyaculado de conejo sobre la calidad espermática post-descongelación.
- Foote, R. (2000). The rabbit as a model for reproductive and developmental toxicity studies. *ELSEVIER*, 14(6), 477-493. [https://doi.org/10.1016/S0890-6238\(00\)00101-5](https://doi.org/10.1016/S0890-6238(00)00101-5) Get rights and content
- Foote, R. (2003). Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Animal Reproduction Science*, 75(1-2), 119-139.

- Fusi, A. (1994). El comportamiento sexual del conejo. 111-113.
https://ddd.uab.cat/pub/cunicultura/cunicultura_a1994m10v19n111/cunicultura_a1994m10v19n111p297.pdf
- Gallegos, I. (2019). Determinacion de las características macroscópicas, microscópicas y subpoblaciones espermáticas del semen de llama (*Lama glama*) colectado por electroyacuación y vagina artificial.
https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/4257/253T20190352_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Glozzi, T., Zaniboni, L., Maldjian, A., Luzi, F., & Cerolini, S. (2009). Quality and lipid composition of spermatozoa in rabbits fed DHA and vitamin E rich diets. *Theriogenology*. *Theriogenology*, 10(9).
- Gonzalo, A. (2020). Efecto de la GnRH sintética sobre la calidad del semen criopreservado diluido con dos productos comerciales, de carneros criollos alimentados con *Medicago sativa* contaminada.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/31395/1/Tesis%20167%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20661.pdf>
- Holtz, W., & Foote, H. (1978). The anatomy of the reproductive system in male Dutch rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with special emphasis on the accessory sex glands. *morphology*, 158(1), 1-20. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051580102>
- Hozbor, F., Ledesma, A., Manes, J., Ríos, G. L., Kaiser, G., Cano, A., Luciano, C., & Alberio, R. (2016). Improve intra-uterine insemination in rabbits using ultra-high temperature skim milk as extender to keep semen at room temperature. *Andrologia*, 48(2), 231-234.
<https://doi.org/10.1111/and.12445>

- Iaffaldano N, Rosato MP, Paventi G, Pizzuto R, Gambacorta M, & Manchisi A. (2010). The irradiation of rabbit sperm cells with He-Ne laser prevents their in vitro liquid storage dependent damage. *Anim Reprod Sci*, 119(123-9), 1-2.
- Jimoh, A. O., & Ewuola, E. O. (2018). Semen Characteristics, Seminal Biochemical And Oxidative Stress Markers In Rabbits During Heat Stress The Federal Polytechnic Ado-Ekiti. En *Article in Journal of Veterinary Andrology*.
<https://www.researchgate.net/publication/341100621>
- Jimoh, O. A. @, & Ayedun. (2020). Quality and fertility of rabbit semen diluted with watermelon juice Archivos de Zootecnia. En *Arch. Zootec* (Vol. 69, Número 266).
- Lankri, E., Boudour, K., Aichouni, A., Rechachou, F., & Zerrouki-Daoudi, N. (2019). Effet du niveau d'alimentation et du taux protéique de la ration sur la libido et les caractéristiques de la semence du lapin de la souche Itelv 2006. *Journées de la Recherche Cunicole*, 18, 86-90.
- Lavara R, García ML, Torres C, Vicente JS, & Baselga M. (2008). Genetics Genetic Parameters For Semen Traits Of Rabbit Males: Ii. Motility. *World Rabbit Congress*, 159-162.
<http://cuniculture.info/Docs/Magazine/Magazine2008/FiguresMag2008/Congres-2008-Verone/Papers/G-Lavara2.pdf>
- Linnaeus, C. (1758). *Oryctolagus cuniculus domesticus*. Europeanrabbit.
- Lopez, F., y Alvariño, J. (1998). Artificial insemination of rabbits with diluted semen stored up to 96 hours. *WORLD RABBIT SCIENCE*, 6(2), 251-253.
<https://polipapers.upv.es/index.php/wrs/article/view/352/339>
- Lopez, J. (2020). *Colecta de semen*. R.Vet. <https://www.reproduccionveterinaria.com/tecnologias-y-biotecnologias-de-la-reproduccion/colecta-y-criopreservacion-de-semen/colecta-de-semen/>

- Mahmoud, k., Ramya, A., & Fankri, E. (2022). Sexual behaviour response, testicular development and semen quality of New Zealand white rabbit bucks as influenced by dietary chitosan. *Reproduction in domestic animals*. <https://doi.org/10.1111/rda.14300>
- Mangiagalli, M. G., Cesari, V., Cerolini, S., Luzi, F., & Toschi, I. (2012). Effect of lycopene supplementation on semen quality and reproductive performance in rabbit. *World Rabbit Science*, 20(3), 141-148. <https://doi.org/10.4995/WRS.2012.1150>
- Mangiagalli, M. G., Martino, P. A., Smajlovic, T., Guidobono Cavalchini, L., & Marelli, S. P. (2010). Effect of lycopene on semen quality, fertility and native immunity of broiler breeder. *British Poultry Science*, 51(1), 152-157. <https://doi.org/10.1080/00071660903401540>
- Marai, M. (2002). Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *scienceDirect*, 78(2), 71-90.
- Mocé, E., & Vicente, J. S. (2002). Effect of cooling and freezing, the two first steps of a freezing protocol, on the fertilizing ability of the rabbit sperm. *Reproduction Nutrition Development*, 42(3), 189-196. <https://doi.org/10.1051/rnd:2002017>
- Morera, P., Kuzminsky, G., & Finzi, A. (2014). Estrés Térmico Crónico: Variaciones De Algunos Caracteres Del Semen Y De La Libido Del Conejo Macho.
- nn. (1951). The gelatinous mass in Rabbit Semen . *Nature* , 168, 422-423.
- Palma, G., & Brem, G. (s. f.). *Biotechnologia de la reproduccion*. Recuperado 26 de agosto de 2023, de <https://core.ac.uk/download/288157980.pdf>
- Palomino, S. (2019). “Evaluación de tres dilutores sobre características espermáticas antes y después de la congelación de semen bovino Holstein”. http://190.119.174.92/bitstream/handle/UNAMBA/836/T_0526.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Papadomichelakis, G., & Fegeros, K. (2000). Effects Of Dietary Energy And Protein Content On Libido And Semen Characteristics Of Bucks.
- Prado, M. (2010). Influencia de cambios de jaula y lactación controlada en conejas inseminadas artificialmente inducidas a la ovulación con gonadorelina y fertirelina. Universidad Autonoma Chapingo.
- Proaño, D. (2022). *Evaluación de tres dosis del producto Conceptase (Buserlina acetato) en conejos (Oryctolagus cuniculus) en la etapa de reproducción y posparto.* <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/35917/1/IASA%20I-TT-0044.pdf>
- Quintero, A. (2007). Multivariate cluster analysis regression procedures as tools to identify motile sperm subpopulations in rabbit semen and to predict semen fertility and litter size. *National Library of medicine*, 42(3).
- Quintero, M. (2010). Determinación De La Presencia De Un Factor Inductor <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/egn716d/doc/egn716d.pdf>
- Rangel, A. (2021). *Plan De Negocios Para Producción De Conejos De Carne Bajo Ambiente Controlado En San Alberto, Cesar* Universidad Coperativa de Colombia]. <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/6891ddfc-0498-4ca3-8622-25e10cff1921/content>
- Romero, C., & Tiparra, J. (2018). Efecto de diferentes dilutores en la inseminacion artificial en reproduccion de conejos criollos. <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/3290/BC-TES-TMP-2039.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Romero, D., Barbosa, L., Machado, W., & Da França, C. (2020). Evaluation of the seminal quality of rabbits fed diets containing different inclusion levels of flaxseed (*Linum usitatissimum*).

- Ciencia* *Tecnologia* *Agropecuaria*, 21(3).
https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL21_NUM3_ART:1528
- Romero, D. C. M., Barbosa, L. P., Machado, W. M., Da França, C. S., Vieira, R. L. A., Mendes, C. S., Santana, A. L. A., & Souza, R. S. (2020). Evaluation of the seminal quality of rabbits fed diets containing different inclusion levels of flaxseed (*Linum usitatissimum*). *Ciencia Tecnologia Agropecuaria*, 21(3).
https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL21_NUM3_ART:1528
- Rosato, M., & Iaffaldano, N. (2011). Effect of chilling temperature on the long-term survival of rabbit spermatozoa held either in a tris-based or a jellified extender. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 46(2), 301-308. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0531.2010.01667.X>
- Shengyong, L., Shengchang, C., Haixia, L., Paengkoum, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Thongpea, S., & Paengkoum, P. (2022). Sustainable Valorization of Tomato Pomace (*Lycopersicon esculentum*) in Animal Nutrition: A Review. En *Animals* (Vol. 12, Número 23). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ani12233294>
- Sousa, P., Santos, E., Souza, A., Lima, G., FPC Barros, F., Oliveira, M., & Silva, A. (2013). Sperm morphological and morphometric evaluation in captive collared peccaries (*Pecari tajacu*). *Pesq.Vet.Bras*, 33(7), 924-930.
- Suárez, C. A., Sierra, A. P., Montoya, J. D. P., & Restrepo, G. B. (2021a). Sperm subpopulations in chilled rabbit semen with different diluents. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, 32(5). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i5.21347>
- Theau-Clement, M., Ailloud, E., Sanchez, A., Duzert, R., Saleil, G., & Brun, J. (2011). Relation entre les caractéristiques de la semence de lapin et sa fécondance.

<http://www.cuniculture.info/Docs/Magazine/Magazine2012/Fichiers-pdf-JRC/073-Theau.pdf>

Tvrda, E., Knazicka, Z., & Lukan, N. (2012). Selected heavy metals versus antioxidant parameters in bull seminal plasma. *A comparative study.*, 47(9), 1261-1266. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.672117>

Valverde, A. (2019). Sperm kinematics and morphometric subpopulations analysis with CASA systems: a review. *Biologia Tropical*, 67(6), 1473-1488. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v67n6/0034-7744-rbt-67-06-1473.pdf>

Viquez, L., Barquero, V., & Valverde, A. (2021). Optimal conditions for the kinematic analysis in fresh semen of Brahman bulls with a CASA-Mot system. *Agronomia Mesoamericana*, 32(3), 920-938. <https://doi.org/10.15517/AM.V32I3.42768>

Viudes-De-Castro, M. P., Lavara, R., Safaa, H. M., Marco-Jiménez, F., Mehaisen, G. M. K., & Vicente, J. S. (2014). Effect of freezing extender composition and male line on semen traits and reproductive performance in rabbits. *Animal*, 8(5), 765-770. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000135>

Vizzarri, F., Palazzo, M., Casamassima, D., Ondruska, L., Massanyi, M., Tirpak, F., Formicki, G., Gren, A., & Massanyi, P. (2019). Lippia citriodora (verbascoside) extract supplementation: Effect on rabbit semen quality in vivo and in vitro. *Czech Journal of Animal Science*, 64(1), 1-10. <https://doi.org/10.17221/35/2018-CJAS>

VOZAF, J., SVORADOVÁ, A., BALÁŽI, A., KUŽELOVÁ, L., VAŠÍČEK, J., MAKAREVICH, A., & CHRENEK, P. (2023). Sperm quality of Zemplin Rabbit and Liptov Bold-Spotted Rabbit breeds. *Danubian Animal Genetic Resources*, 8(2), 65-72. <https://doi.org/10.59913/dagr.2023.12358>

9. Apéndices

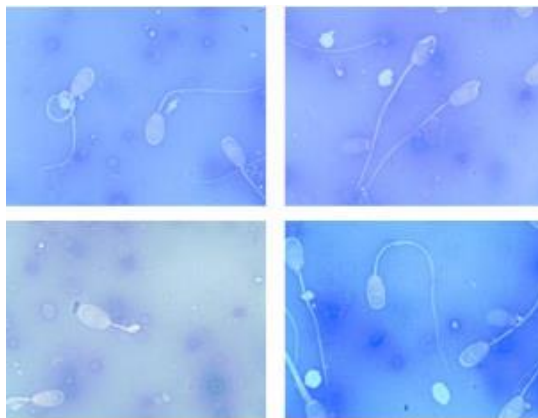
Apéndice A.

Evaluación microscópica del semen de conejo.



Apéndice B.

Diferentes anomalías del espermatozoides de conejo.



Apéndice D.

Presencia de gel en eyaculado de conejo.

**Apéndice C.**

Diferencias entre 3 eyaculado de conejos.



Apéndice E.*Características del semen de Conejo.*

	Colecta		Promedio de los dos eyaculados
	Eyaculado N°1	Eyaculado No 2	
Volumen	0,46 ± 0,23	0,35 ± 0,21	0,41±0,22
Motilidad Masal	3,21±1,2	2,72 ±1,19	2,97±1,19
Motilidad Individual	49,17 ±18,5	37,8 ± 20,7	43,5±19,6
Concentración	201,8±51	193,2 ± 42,7	197,5±46,8
Morfología	54,5 ±12,8	54,4 ±8,8	54,4 ± 10,8

Nota: las características del semen (por rango de eyaculados y en promedio sobre ambos) en el tratamiento control.

Apéndice F.*Motilidad individual progresiva de semen de conejo refrigerado.*

HORA	Agua de Coco	Leche descremada	Jugo Sandia	Triladyl
0	65	65	65	65
2	23,98	33,55	1,17	1,67
4	24,24	40,22	0	1,67
6	20,9	47,94	0	1,67
8	19,44	37,72	0	1,67
10	16,6	34,96	0	1,67

Nota: Motilidad individual progresiva de semen de conejo refrigerado a 5°C en 3 eyaculados naturales y 1 sintético.

