



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICÓLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DEL CONSUMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3
EN CONEJOS MACHOS, SOBRE LA CALIDAD SEMINAL Y LA
FERTILIDAD**

T E S I S

QUE PRESENTA:

LIZBETH ESMERALDA ROBLES JIMÉNEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

MC. GARCIA VALLADARES ANTONIO

CO-ASESOR

MC. CRUZ HERNANDEZ ANGEL RAÚL

Morelia, Michoacán, Agosto del 2011





UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICÓLAS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DEL CONSUMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3
EN CONEJOS MACHOS, SOBRE LA CALIDAD SEMINAL Y LA
FERTILIDAD**

T E S I S

QUE PRESENTA:

LIZBETH ESMERALDA ROBLES JIMÉNEZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán, agosto del 2011



DEDICATORIA

Le agradezco a **Dios** por haberme dado la oportunidad de vivir para cumplir este sueño y por regalarme una familia tan maravillosa.

A mi Padre Isaías Robles Zavala y a mi **madre María Marta Jiménez Luna** por apoyarme durante toda mi vida, gracias por la educación que me dieron, por ser mis guías, mi horizonte, mis superhéroes, mi límite ante los excesos, mis amigos y mis mejores consejeros, y sobre todo por darme la oportunidad de ser su hija. Son las personas que más admiro en esta vida porque para ustedes no hay límites, ni barreras que obstaculicen su camino.

A mi **hermana Laura Robles Jiménez** por estar siempre a mi lado y nunca abandonarme.

A mi **abuelo Manuel** por tanto amor que me diste, por enseñarme a amar tanto a los animales, por confiar en mí y por ser mi guía desde el cielo.

A mi **abuela Concepción** por el tiempo que estuviste en mi vida aunque fue muy corto gracias.

A mi **abuelo Enrique** por apoyarme y por estar en mi vida para enseñarme la humildad y la grandeza de las cosas más pequeñas, además de siempre sacarme una sonrisa y hacerme feliz con su sola presencia.

A mi **abuela Angelina** por ser la abuelita más consentidora y más cariñosa del mundo, por enseñarme la valentía y el coraje para salir de los problemas más difíciles sin importar ningún obstáculo que se pusiera enfrente. Gracias por estar en estos momentos conmigo guiándome desde el cielo.

A mi **amiga Coty** por apoyarme en los momentos más difíciles de la realización de este trabajo y porque sin ella este sueño no se hubiera hecho realidad.

A mis **asesores** por apoyarme y tenerme tanta paciencia en la realización de este trabajo, sin importar distancia ni tiempo.

A mis **amigos** y **compañeros** por estar a mi lado en este camino tan difícil de la vida y en general a todas las personas que estimo y que son parte de mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISION DE LITERATURA | 2 |
| 2.1 Anatomía del aparato reproductor del conejo | 2 |
| 2.2 Endocrinología reproductiva del macho | 4 |
| 2.2.1 Morfología del espermatozoide del conejo macho | 5 |
| 2.3 Espermatogénesis y maduración espermática | 9 |
| 2.4 Comportamiento sexual del conejo | 11 |
| 2.5 Establecimiento de la pubertad | 11 |
| 2.6 Mecanismo de eyaculación | 13 |
| 2.7 Recolección de semen en el conejo | 13 |
| 2.7.1 Evaluación de semen | 14 |
| 2.7.2 Examen macroscópico | 15 |
| 2.7.3 Examen microscópico del semen | 16 |
| 2.8 Lípidos | 18 |
| 2.8.1 Ácidos grasos omega-3 | 20 |
| 2.8.2 Metabolismo del omega-3 | 21 |
| 2.8.3 Beneficios | 21 |
| 2.8.4 Desventajas | 22 |
| 2.8.5 Fisiología | 22 |
| 2.8.6 Empleo de los omega-3 | 23 |
| 3. Problema de investigación | 27 |
| 4. Hipótesis | 27 |

| | |
|---------------------------|----|
| 5. Material y Métodos | 28 |
| 6. Resultados y Discusión | 31 |
| 7. Conclusión | 36 |
| 8. Bibliografía | 37 |

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Cuadro 1. Se presenta el contenido de nutrientes que muestra la etiqueta del alimento comercial utilizado para la alimentación de los machos y hembras. | 28 |
| Figura 1. Órganos que participan en la formación del semen | 3 |
| Figura 2. Partes de un espermatozoide | 8 |

ÍNDICE DE GRAFICAS

| | Página |
|---|--------|
| Grafica 1. Volumen (ml) de eyaculado en conejos con y sin suplementación con ácidos grasos ω -3. | 31 |
| Grafica 2. Concentración espermática ($\times 10^6/\text{ml}$) en el eyaculado de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos ω -3. | 32 |
| Grafica 3. pH del eyaculado de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos ω -3. | 33 |
| Grafica 4. Viabilidad, motilidad en masa e individual de los espermatozoides de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos ω -3. | 34 |
| Grafica 5. Morfo-anomalías en los espermatozoides de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos ω -3. | 35 |
| Grafica 6. Fertilidad de las conejas con semen adicionada con ω -3 y sin adición de ω -3 | 35 |

I. INTRODUCCIÓN

Los ácidos esenciales han sido parte de nuestra dieta desde el comienzo de la vida humana. En los últimos 20 años se han realizado muchas investigaciones sobre el metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados, principalmente de los ácidos grasos omega-3, los cuales fueron descubiertos por primera vez en 1970 cuando los médicos daneses observaron que los esquimales de Groenlandia tenían una incidencia excepcionalmente baja de la enfermedad cardíaca y artritis, a pesar del consumo de una dieta alta en grasas (Simopoulos, 1999; Daley *et al.*, 2010).

En la actualidad se emplean como suplementos o complementos en la dieta con diferentes fines, entre ellos se encuentran: el mejorar la circulación sanguínea al reducir la cantidad de colesterol, mejorar la respuesta inmunitaria, reducir los problemas de artritis, entre otros (Nettleto, 1991; Simopoulos, 1999). Sin embargo, al tratarse de ácidos grasos esenciales (Nettleto, 1991), los efectos benéficos por el consumo de éstos podrían verse reflejados en otros aspectos fisiológicos tales como los diferentes procesos involucrados en la reproducción. Se conoce que las membranas plasmáticas están constituidas por diferentes ácidos grasos, además de proteínas y colesterol (Penny *et al.*, 2002), de tal manera que la adición de los omega-3 contenidos en el aceite de pescado podrían mejorar la calidad de las membranas plasmáticas tanto de los gametos femeninos como los masculinos y en consecuencia mejorarían la calidad embrionaria.

En los conejos el aporte de ácidos grasos esenciales ocurre mediante el consumo de forrajes (vegetales), y debido a los cambios en los sistemas productivos de extensiva a intensiva se requiere de mayores aportes nutricionales para lograr cubrir dicha demanda (Lleonart, 2005).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Anatomía del aparato reproductor del conejo

La estructura reproductiva del macho está constituida principalmente por dos testículos, conductos eferentes, epidídimo, conductos deferentes, el pene y órganos accesorios.

El conejo tiene como elementos gonadales a los testículos, que son los órganos encargados de producir los espermatozoides o células germinales, segregando al mismo tiempo las hormonas masculinas o andrógenos. Los andrógenos controlan la producción de espermatozoides y la actividad sexual del macho. Las glándulas accesorias (vesícula, próstata y las glándulas bulbouretrales o de Cowper) contribuyen con secreciones para producir el semen. Los ductos incluyen el epidídimo, ducto deferente y uretra. Estos contribuyen al almacenamiento, maduración y transporte de los espermatozoides (Cunningham *et al.*, 2009).

En los testículos se producen espermatozoides y hormonas (andrógenos). Son básicamente sacos de túbulos corrugados donde se forma la esperma. Los andrógenos son producidos por células especializadas (“Leydig”) localizadas entre los túbulos. La producción de estas hormonas está controlada por hormonas secretadas en la glándula pituitaria anterior, localizada en la base del cerebro. Los andrógenos controlan la producción de espermatozoides y la actividad sexual del macho. Las glándulas accesorias (vesícula, próstata y las glándulas bulbouretrales) contribuyen con secreciones para producir el semen. Los ductos incluyen el epidídimo, ducto deferente y uretra. Estos contribuyen al almacenamiento, maduración y transporte de los espermatozoides (Cunningham *et al.*, 2009).

Los testículos están formados por los túbulos seminíferos, células intersticiales, nervios, vasos sanguíneos, *rete testis* y conductos eferentes.

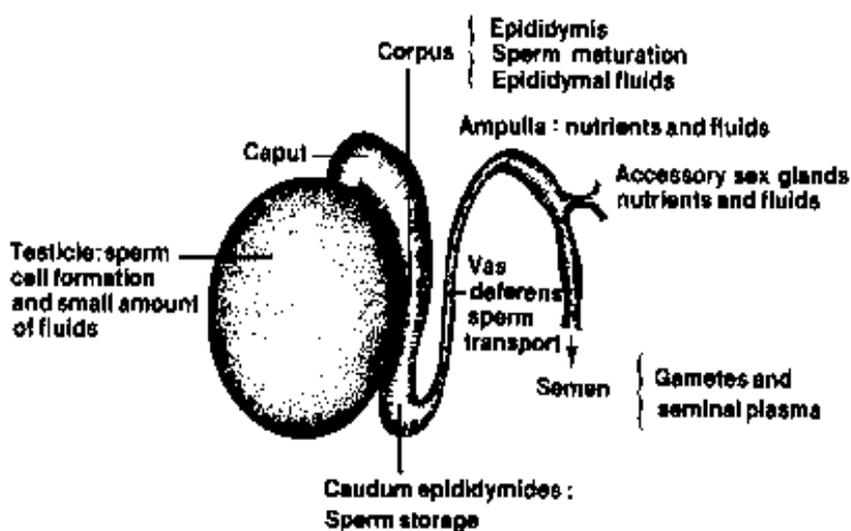


Figura 1. Órganos que participan en la formación del semen (McDonald, 2003).

El **epidídimo** constituye una estructura formada por una gran cantidad de los conductos deferentes continúan el canal del epidídimo como un tubo sumamente enrollado paralelo al cuerpo del epidídimo que desemboca en la uretra, en un gran arco situado caudalmente con respecto al esfínter vesicular

Las **glándulas accesorias** están conformadas por la vesícula seminal, glándula vesicular, próstata, glándulas paraprostáticas y glándula bulbouretral (Alvariño, 1993; Cunningham *et al.*, 2009). Estas glándulas producen la mayor parte del líquido seminal el cual sirve como medio de suspensión y sobrevivencia de los espermatozoides (Rodríguez, 1998).

Colector seminal, es un conducto recto, situado en la misma base del pene; recibe a los espermatozoides que llegan por el conducto deferente y las secreciones de las glándulas vesiculares y próstata situadas sobre él.

Conducto eyaculador; sigue a continuación del anterior y recoge las secreciones de las glándulas bulbos uretrales.

Uretra, se refiere a la prolongación del conducto anterior y es la porción que corresponde al cuerpo del pene. El pene del conejo no tiene glánde, sirve como conducto tanto para la orina como para el semen (Rodríguez, 1998).

2.2 ENDOCRINOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO

Las hormonas primarias regulan los diferentes procesos reproductivos, mientras que las secundarias o metabólicas influyen en la reproducción de manera indirecta. Las hormonas primarias están involucradas en muchos aspectos de los procesos reproductivos: espermatogénesis, ovulación, comportamiento sexual, fertilización, implantación, mantenimiento de la gestación, parto, lactancia y comportamiento materno.

Las hormonas reproductivas se derivan primordialmente de cuatro sistemas u órganos principales: varias áreas del hipotálamo, lóbulos anterior y posterior de la hipófisis, gónadas (testículos y ovario, incluidos su tejido intersticial y cuerpo amarillo), útero y placenta (Hafez y Hafez, 2003).

Hormonas hipotalámicas liberadoras / inhibitoras: Las hormonas del hipotálamo que regulan la reproducción son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH o LH-RH), ACTH y el factor inhibidor de prolactina (PIF). El hipotálamo es también fuente de oxitocina y vasopresina, que están almacenadas en la neurohipófisis (Hafez y Hafez, 2003).

Hormonas adenohipofisarias: El lóbulo de la hipófisis secreta tres hormonas gonadotrópicas: FSH, LH y prolactina.

Hormonas neurohipofisarias: Las hormonas de la hipófisis anterior difieren de las otras hormonas hipofisarias en que ellas no se originan en la hipófisis, sino que únicamente se almacenan ahí hasta que se necesitan. Las dos hormonas, oxitocina y vasopresina, en realidad se producen en el hipotálamo. Estas hormonas son transferidas del hipotálamo a la hipófisis posterior, no a través del sistema vascular, sino a lo largo de los axones del sistema nervioso (Hafez y Hafez, 2003).

Hormonas esteroides gonadales: Los ovarios y los testículos secretan primordialmente hormonas esteroides gonadales. También los órganos no gonadales como las glándulas suprarrenales y la placenta, secretan hormonas esteroides en cierta medida. Estas son de cuatro tipos: andrógenos, estrógenos, progestinas y relaxina. Los tres primeros tipos son esteroides, mientras que el cuarto es una proteína (Hafez y Hafez, 2003).

Prostaglandinas: Las prostaglandinas se aislaron primero de líquidos de glándulas sexuales accesorias y se denominaron prostaglandinas por su asociación con la próstata. Casi todos los tejidos corporales las secretan (Hafez y Hafez, 2003).

2.2.1 Morfología del espermatozoide del conejo macho

El espermatozoide se compone de dos partes: la cabeza, que lleva la información genética y la cola, que le permite moverse en la vagina hasta alcanzar el óvulo en el útero. Los testículos producen entre 50 y 250 millones de espermatozoides diarios. Sin embargo, esta cantidad puede variar de acuerdo con la raza, la edad del conejo y la condición en relación con la nutrición. Los espermatozoides que no son eyaculados, se degeneran en el epidídimo y los restos son reabsorbidos por la sangre, mientras que otros espermatozoides pueden pasar por la orina y ser expulsados del organismo (Rodríguez, 1998; García, 2000).

El espermatozoide consta de una cabeza y de un flagelo o cola (Rodríguez, 1998). El flagelo se puede subdividir en: cuello, parte media, parte principal y parte terminal. El espermatozoide de conejo presenta una forma redondeada, y tiene un largo total de 54.4 micras. La capacidad fecundante de un espermatozoide de conejo es de 30 horas, y su velocidad de desplazamiento es de 20 a 35 micras por segundo (García, 2000).

a) Cabeza

La **cabeza espermática** incluye al núcleo, el casquete posnuclear, que cubre la porción posterior del núcleo y el acrosoma. La cual se divide en región acrosomal y la post-acrosomal. La región acrosomal puede subdividirse en dos segmentos que es la región

acrosomal anterior y posterior junto con el segmento ecuatorial, los conejos constan de 44 cromosomas que se dividen en 22 pares (Garner y Hafez, 2000).

El extremo anterior de la cabeza está diferenciado el acrosoma, cuya función es capacitar al espermatozoide para penetrar a través de las membranas del óvulo, y hacer que establezca conexión con el citoplasma. En el núcleo, se contienen los genes y es el responsable de la transmisión de los caracteres hereditarios procedentes del progenitor masculino. Es decir, contiene una dotación haploide (n) de DNA, que corresponde a los genes paternos y que ésta muy fuertemente ligada a una proteína intensamente básica. El resultado es que el complejo DNA-proteína básica- se hace casi cristalina en el núcleo del espermatozoide y el DNA queda completamente reprimido e inactivo. En el núcleo del espermatozoide no hay ningún nucléolo (Eddy, 2006).

El **acrosoma** que se origina a partir del complejo de Golgi de la espermátide, contiene un material granuloso denominado granulo acrosómico. La parte posterior de la cabeza también contiene el centriolo del espermatozoide, que será necesario para la iniciación de la división celular en el huevo fecundado. La pieza media del espermatozoide contiene la base del flagelo y, alrededor de dicha base, las mitocondrias. Éstas, siendo portadoras de enzimas oxidativas y enzimas responsables de la fosforilación oxidativa, constituyen la central de energía que procura, de forma adecuada para ser usada en la propulsión del espermatozoide, energía para el flagelo (Cunningham *et al.*, 2009).

b) Flagelo

El **flagelo** que es normalmente la parte más larga del espermatozoide, mediante sus movimientos hace que el espermatozoide nade como la cabeza en primer término. Es la estructura del espermatozoide que le confiere la capacidad necesaria para desplazarse y penetrar los límites del tracto reproductor femenino y la zona pelúcida durante la fertilización (Eddy, 2006). Está rodeado por una vaina proteica, está formado por nueve filamentos externos y dos centrales de naturaleza química bastante bien conocida (Gilbert, 2005).

El flagelo se divide en cuatro regiones: el cuello, la pieza media, la pieza principal y la pieza terminal (Eddy, 2006).

El *cuello* es la porción del flagelo que se une a la fosa de implantación del núcleo en la cabeza del espermatozoide (Turner, 2003). Entre el cuello y una estructura llamada *annulus*, se encuentra la pieza media. El *annulus* es un anillo fibroso que forma parte del citoesqueleto flagelar el cual se adhiere a la superficie interna de la membrana citoplásmica y marca el comienzo de la pieza principal del flagelo (Turner, 2003).

La *pieza media* se caracteriza por la presencia por la presencia de fibras densas externas, cada una de las cuales se apoya en la cara externa de los túbulo del axonema y una cubierta de mitocondrias que encierra a las fibras densas externas y al axonema. El conjunto de fibras densas externas y la vaina fibrosa forman el citoesqueleto del flagelo (Eddy, 2006).

Las *mitocondrias* se encuentran alojadas en la pieza media del espermatozoide y producen adenocin trifosfato (ATP) para que se lleve a cabo la respiración aeróbica de la célula. Las mitocondrias espermáticas han sido asociadas con varias proteínas o isoformas de proteínas que no son encontradas en las mitocondrias de las células somáticas (Turner, 2003). Las mitocondrias suelen estar bien desarrolladas y a veces son muy numerosas, cuando son un número pequeño (sólo una o dos) son de gran tamaño, contienen todas las enzimas respiratorias y son capaces de llevar a cabo una fosforilización oxidativa extremadamente activa. Oxidan activamente tanto los sustratos endógenos (fosfolípidos) como los exógenos que se encuentran en la fructosa del líquido seminal (Cunningham *et al.*, 2009). En las mitocondrias espermáticas de la membrana mitocondrial externa se encuentra estabilizada por puentes disulfuro intramoleculares que se forman durante el paso del espermatozoide por el epidídimo. Estos puentes forman una capsula mitocondrial parecida a la queratina (Eddy, 2006).

En el inicio de la *pieza terminal* dos de las nueve fibras densas externas son reemplazadas por dos columnas longitudinales de la vaina fibrosa, y por lo tanto se reduce el número de nueve a siete fibras densas externas. Las vainas fibrosas se encuentran a lo largo de la pieza principal y son estabilizadas por medio de un anillo circunferencial que rodea las fibras densas externas. Las fibras densas externas y de vainas fibrosas son eliminadas, en la sección corta del flagelo denominada la pieza final

que contiene exclusivamente al axonema rodeado por la membrana plasmática (Turner, 2003).

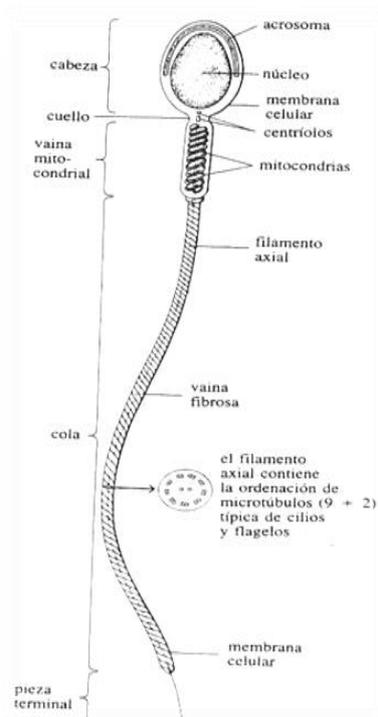


Figura 2. Partes de un espermatozoide (Rodríguez, 1998).

Composición media del eyaculado del conejo

El semen del conejo es un líquido blanco nacarado, si es de buena calidad, o blanco-ocre-grisáceo si es de calidad deficiente, en este distinguen dos fracciones:

-Un líquido traslúcido, blanquecino y viscoso conteniendo pequeñas gotas de grasa, microcristales, fructosa, ácido cítrico – licor seminal.

-Una porción celular o espermatozoides, los cuales presentan una movilidad intensa en el seno del licor seminal.

El volumen oscila notablemente, si bien se consideran normales las eyaculaciones entre 0.4 y 0.8 mm, se han señalado casos en que la producción ha alcanzado hasta 3 mm, variación que obedece a la secreción de las glándulas anexas.

La concentración de espermatozoides oscila entre los 150 a los 300 millones por mm, si bien hay notables oscilaciones entre los individuos e incluso en un mismo animal puede variar según el ejercicio y la época del año. La calidad del semen también varía con el número de montas. Se recomienda que el macho adulto realice 4 montas por semana, esto por una parte mejora la fertilidad y por otra permite utilizar a los sementales por más tiempo (Egea, 1993; Lleonart, 2005).

Los conejos son animales de eyaculado bifásica, presentando una primera porción compuesta por un líquido traslucido, viscoso, con pequeñas gotas de grasa y microcristales (gel), así como una segunda compuesta por líquido seminal y en su seno los espermatozoides (Zarate, 2006).

Las glándulas accesorias proporcionan la mayor parte del volumen del eyaculado que corresponde al líquido seminal y que contiene; Fructosa (40 mg/100 ml); Acido cítrico (100-150 mg/100ml); (Inositol: 30 mg/100 ml); Gliceril fosforilcolina (media de 280 rango de 210-370 mg/100 ml); Numerosos iones (Na, K, P, Mg, Ca, Zn).

Los espermatozoides son metabolitos activos debido a que poseen las enzimas necesarias para llevar a cabo reacciones químicas tales como la glucólisis y la oxidación de ácidos grasos.

La función del espermatozoide para la cual su organización está adaptada, es alcanzar el óvulo, fusionándose con él, hace que éste empiece a desarrollarse y transmitir al embrión en desarrollo los genes paternos. En la mayoría de los casos esto significa que el espermatozoide debe tener un alto grado de movilidad, y de hecho, la organización del espermatozoide típico está determinada en gran manera por la presencia de un mecanismo de locomoción altamente desarrollado (Rodríguez, 1998; García, 2000).

2.3 Espermatogénesis y maduración espermática

La espermatogénesis es un proceso mediante el cual ocurre una diferenciación celular, para lo cual es necesario que ocurran una serie de divisiones mitóticas y meióticas

además de transformaciones citológicas hasta la formación completa de un espermatozoide (Cunningham *et al.*, 2009). Todo el proceso es llevado a cabo en los túbulos seminíferos a partir de las espermatogonias, la espermatogénesis se divide a su vez en dos fases: la espermatocitogénesis y espermiogénesis (García, 2000).

En los conejos la espermatogénesis comienza entre los 40 - 50 días. Los primeros espermatozoides aparecen en la eyaculación hacia los 100 días. La madurez sexual, definida como el momento en que la producción cotidiana de espermatozoides no aumenta más, se alcanza a los 8 meses (240 días) (Avalos, 1998; Zarate, 2006).

a) Espermatocitogénesis

Antes de la pubertad solo se encuentran dos tipos de células en los tubulos seminíferos, las células de Sertoli (sirven de sustento) y espermatogonias o células sexuales primarias del macho, estas últimas experimentan una serie de divisiones y cambios que comienzan en la periferia y avanzan hacia la luz del túbulo, (García, 2000; Eddy, 2006); no se sabe a ciencia cierta en que clase de procesos están implicados las células de Sertoli, pero se supone que desempeñan el papel de alimentación de espermatozoides totalmente formados, antes de que abandonen los túbulos (García, 2000).

Las espermatogonias (tipo AO), son células diploides, estas y las células de Sertoli son relativamente inactivas hasta antes de la pubertad, que en el ternero es a los 6-9 meses de edad y es cuando empieza la división de espermatogonias, las cuales llenan la periferia y se extienden hacia la luz del túbulo (Eddy, 2006). Las espermatogonias tipo AO se dividen para dar origen a las espermatogonias A1, las cuales se dividen progresivamente para formar las espermatogonias A2, A3 y A4. El tipo A4 se divide para formar espermatogonias intermedias y este a su vez forma los tipos B1 y B2, estas células se pueden identificar mediante cortes histológicos y tinciones (Eddy, 2006; Cunningham *et al.*, 2009).

Es posible que las espermatogonias tipo A2 no solo se dividen para formar espermatozoides, sino que también para reponer la población del tipo A1, mientras que los tipo AO reponen la población de células madre (Cunningham *et al.*, 2009). Las espermatogonias tipo B2 son la base de la producción de espermatozoides, estas se

dividen para formar dos espermatocitos primarios, hasta este momento, todas las divisiones han sido mitóticas, es decir, se han conservado los números diploides de cromosomas (Cunningham *et al.*, 2009).

Los espermatocitos primarios se dividen a su vez en dos células haploides, llamadas espermatocitos secundarios, cada uno de los cuales a su vez se dividen en 2 espermátides, de modo que cada espermatocito primario da origen a cuatro espermátides. Los espermatozoides, en su estadio final, se producen a partir de las espermátides, después de que las divisiones celulares se sucedieron hasta espermátides, siguen la espermiogénesis o segunda fase de la espermatogénesis (Cunningham *et al.*, 2009).

2.4 Comportamiento sexual del conejo

El comportamiento de la monta presenta dos componentes. El primero constituye la conducción sexual o libido, promovida por la testosterona y el segundo incluye la fase de copulación que tiene que ver con los ajustes de postura, intromisión, eyaculación, orgasmo y comportamiento postcopulatorio.

El comportamiento sexual varía considerablemente entre machos y dentro del mismo individuo y posiblemente las diversas condiciones hormonales de los machos y de las hembras influyen en las características del patrón del impulso sexual.

La libido está asociada con el volumen de eyaculado y con la concentración de esperma. Machos más agresivos producen mayor volumen de eyaculado con una menor concentración de espermatozoides y un mayor porcentaje de espermatozoides vivos que en machos menos agresivos (Avalos, 1998).

2.5 Establecimiento de la pubertad

La pubertad puede definirse como el proceso biológico que es experimentado por todo individuo, en el que se presentan ciertos cambios hormonales que traen consigo la reproducción. Es decir, ocurre la maduración del sistema endócrino a nivel reproductor. En la hembra este proceso se observa en la

manifestación de sus ciclos sexuales, mientras que el macho es capaz de emitir un eyaculado que puede fertilizar (Rodríguez, 1999).

La aparición de este proceso puede depender de varios factores, tanto extrínsecos como intrínsecos, y de su interacción. Por ejemplo, en los factores extrínsecos se encuentran las influencias que ejerce el medio ambiente, y con respecto a los intrínsecos se tienen los factores genéticos y la interacción retina-glándula, pineal-hipotálamo (Cunningham *et al.*, 2009).

En los conejos la pubertad se presenta a diferentes edades, dependiendo de la raza a considerar. Así, las razas pequeñas inician la pubertad entre los dos y tres meses de edad; las razas medianas entre tres y cuatro meses de edad y las razas gigantes entre los cuatro y cinco meses de edad. Estos rangos pueden estar sujetos a variación debido a los cambios extrínsecos o intrínsecos que se puedan involucrar (fotoperiodo, clima, alimentación, convivencia con el sexo opuesto, etcétera), se acepta que la pubertad de los conejos se alcanza cuando llegan al 70% del peso adulto (Rodríguez, 1999).

Madurez sexual

La madurez sexual es una etapa o un proceso biológico en el que la hembra o el macho poseen la total capacidad y función reproductiva, sin que haya riesgos de padecer ciertas limitaciones. Esto se refiere a que, por ejemplo, el que una coneja comience con su ciclo indica que potencialmente es capaz de reproducirse y sin embargo, no implica que tenga la madurez biológica para hacerlo. Generalmente el apareamiento al inicio de la pubertad y no al alcance de la madurez sexual; va en detrimento del organismo de la hembra, pues en caso de quedar gestante se detiene su desarrollo físico y por consiguiente aumentan las posibilidades de padecer distocia, perder peso en la lactancia, entre otras.

Se considera que la madurez sexual se presenta cuando la coneja ha alcanzado entre 80 y 85% del peso corporal total que alcanzará cuando llegue al estado adulto. En una manera de aproximación este peso es alcanzado en razas pequeñas a los entre los 3.5 y 4 meses, en las medianas entre cuatro y cinco meses y en las razas gigantes entre los 5.5 y

6.5 meses de edad. Respecto al macho, si bien éste puede montar desde los seis meses de edad, su plena producción espermática la alcanza hasta los siete u ocho meses de edad (Rodríguez, 1999; Cruz *et al.*, 2009; Cunningham *et al.*, 2009)

2.6 Mecanismo de eyaculación

A la expulsión del contenido espermático de la cola del epidídimo, junto con las secreciones de las glándulas accesorias, se le denomina eyaculación. Esta acción es generada por la estimulación sexual, desencadenada a su vez por la presencia de la hembra en celo o a la manipulación del técnico encargado de obtener el eyaculado. La erección y la eyaculación están reguladas por el sistema nervioso autónomo (nervio perineal profundo). La eyaculación inicia por la contracción rítmica de los músculos lisos que cubren a la cola del epidídimo y de los conductos deferentes (Kuster y Althouse, 2007).

2.7 Recolección de semen en el conejo

El método de colecta consiste en desencadenar el reflejo eyaculatorio en el macho mediante estímulos térmicos, elásticos y mecánicos.

Es preferible que la temperatura del agua de la vagina artificial supere los 44°C al llenar el depósito, lo importante es que en el momento de la introducción del pene, la temperatura vaginal sea de 40 °C si es menor el macho rechazará la monta mientras que si está por encima puede dañar el pene del animal, a la vez que se provoca un shock térmico a los espermatozoides (Roca *et al.*, 2008).

En el momento de la extracción se lleva la hembra a la jaula del macho. Se pone a la hembra en posición de servicio, cuando el macho intenta el salto se coloca la vagina artificial por debajo del vientre de la coneja, de manera tal que el pene del reproductor se introduzca en la vagina artificial.

Una vez terminado el salto, si en el tubo colector del eyaculado se observa un tapón mucoso o gel, procedente de la secreción de las vesículas seminales y de la próstata, se debe debidamente retirar. El eyaculado se coloca en un tubo de centrífuga graduada

dentro de un termo a 37°C de temperatura, procediendo a la valoración del eyaculado en forma macroscópica y ó microscópica (Luciano y Salles, 2002).

La vagina se arma con una camisa de globo de hule y se recubre con un preservativo sin espermaticida, para evitar el contacto con los residuos del hule, el agua es introducida por un orificio en la parte superior de la vagina con ayuda de una jeringa.

En el momento de colectar el semen, la temperatura óptima en el interior de la vagina debe ser de 42° C. Sin embargo, existen conejos que exigen una mayor temperatura para eyacular.

Después de unos segundos de reconocimiento entre ambos, se sujeta a la hembra cogiendo piel del dorso con la mano izquierda y se espera a que el macho la monte. Cuando éste salta sobre la hembra, se coloca la vagina artificial debajo de su abdomen y sin necesidad de tocar el pene se dirigirá de modo que el macho lo introduzca en ella. El macho realiza la eyaculación de la misma forma que en la monta natural, empujando hacia delante y posteriormente cayendo de costado o de espaldas. A continuación se sacude la vagina para que el semen que pueda quedar en ella escurra al tubo colector. El macho puede saltar y montar sin liberar absolutamente nada de semen, aunque esto sólo sucede en muy raras ocasiones.

Una vez realizada la colecta de semen, se retira el tubo colector con cuidado, evitando especialmente que el semen entre en contacto directo con el agua contenida en la vagina, por sus efectos letales (Luciano y Salles, 2002).

2.7.1 Evaluación del semen

Una vez realizada la recolección del eyaculado, se debe poner a 32-37°C, evitando exponerlo a la luz del sol. Los recipientes a usar deben estar atemperados y estériles; en caso de que no puedan esterilizarse, se lavarán y enjuagarán muy bien en el propio diluyente (nunca en agua común, pues se corre el riesgo de provocar un choque iónico), las mismas condiciones deben prevalecer durante la evaluación del semen (Roca *et al.*, 1987).

La evaluación del semen se hace de forma macroscópica y microscópica. Esta evaluación permite asignar un valor de calidad al eyaculado; dicho valor determina el grado de dilución al que será sometido el espermatozoide. Para lograr esto, un sistema de puntuaciones mediante una serie de códigos suele ser de gran utilidad, pudiendo cada cunicultor, establecer su puntuación en base a sus necesidades y experiencias (Roca, 1980; Roca *et al.*, 1995).

En el examen macroscópico se evalúa: a) volumen, b) color y c) pH y en el examen microscópico: a) movilidad espermática, b) concentración espermática y c) morfología espermática.

2.7.2 Examen macroscópico

Volumen. La medida del volumen se hace para calcular posibles diluciones del semen para su posterior procesamiento y establecer patrones de cada conejo, por ejemplo la edad de los sementales, estado nutricional, raza son variante en la cantidad de sementales (Hafez, 2002). Se determina mediante la graduación de los tubos colectores, debe ser de 0.25-0.3 a 1-1.5 ml. Depende de la época del año los valores más bajos de rango se obtienen en otoño y los más altos en primavera.

Color. La evaluación del color es dada por observación subjetiva y se clasifica en cremoso, lechoso y acuoso, teniendo el color una correlación positiva con la concentración espermática de la muestra, de modo que una muestra cremosa sugiere una alta concentración espermática, una lechosa una concentración mediana y una muestra acuosa nos hace pensar en una concentración muy baja de espermatozoides en el eyaculado (Hafez, 2002; Lavara *et al.*, 2005).

Densidad. Sabemos que el color normal del semen debe ser blanco nacarado o blanco lechoso; no obstante, será más denso, es decir, más opaco, mientras más espermatozoides contenga. Por el contrario, mientras más reducida sea la concentración, el aspecto será más acuoso (Roca *et al.*, 2008).

pH. La medición del potencial de hidrogeno es realizada mediante un peachimetro o bien con cintas tornasol en una pequeña muestra de semen. El semental conejo tiene un pH que fluctúa entre 6.0 -7.3; aunque otros autores han observado ligeras diferencias que oscilan de 6-8-7.5. Por lo general a partir de valores de 7.2 comienza a disminuir la concentración, motilidad y viabilidad del semen. Valores diferentes nos indican mala calidad seminal (Hafez, 2002).

Otra forma de clasificar el semen según su color es utilizando los criterios descritos por Roca (2008), que establece los siguientes criterios:

- Código 3 Blanco nacarado o marfil
- Código 2 Blanco lechoso
- Código 1 Blanco acuoso
- Código 0 Anulado semen con orina o sangre

La tapioca es una sustancia gelatinosa formada a partir de las secreciones prostática y vesicular y es bastante habitual. Cuando la monta es natural, la tapioca forma un tapón en la vagina, impidiendo el reflujo del esperma al exterior. Sin embargo, en la inseminación artificial es perjudicial porque ejerce un efecto aglutinador en los espermatozoides, los cuales pierden gran parte de su movilidad (Roca *et al.*, 1987). La cantidad mínima de impurezas es de 0.72% (Roca, 2008), las cuales pueden ser evaluadas de la siguiente manera:

- Código 3 Ausencia total de sustancias y cuerpos extraños
- Código 2 Algunas sustancias y cuerpos extraños
- Código 1 Presentes sustancias y cuerpos extraños
- Código 0 Gran cantidad de sustancias y cuerpos extraños (Roca *et al.*, 1993).

2.7.3 Examen microscópico del semen

Motilidad espermática: Incluye la motilidad masal y progresiva, se utiliza una gota de semen, que se coloca entre un portaobjetos y un cubreobjetos a 37°C y se observa a un aumento de 400x. La determinación de movilidad se realiza por observación subjetiva, utilizando los criterios presentados por Parker (1999). La motilidad puede ser evaluada por medio de una escala de puntos de la siguiente forma:

- 0 Ausencia de motilidad
- 1 Muy poca motilidad
- 2 Poca motilidad. Se mueve solo un 25% de espermatozoides
- 3 Buena motilidad. Se mueve el 25 al 75% de espermatozoides
- 4 Muy buena motilidad. Se mueve el 75 al 95% de espermatozoides con desplazamientos amplios (Roca, 2008).

Concentración espermática: Se puede valorar mediante Cámara de Neubauer o en forma subjetiva se observa una gota de semen entre porta y cubreobjeto a 400 aumentos. Generalmente, este parámetro se expresa en espermatozoides/ml. Para su determinación, se pipetea 0.05 ml de semen mediante una pipeta cuenta glóbulos blancos. A continuación, se añaden 0.06 ml de una solución tinte (eosina amarillenta al 1/500). Se agita el conjunto y, depositando una gota en la cámara de Neubauer, se observa en el microscopio. La concentración oscila entre 150 y 500 millones de espermatozoides por ml (Luciano y Salles, 2002). Al igual que las otras características, la concentración se evalúa y registra mediante códigos como sigue:

- Código 4: 450 x 10⁶ de espermatozoides/ml
- Código 3: 450 x 10⁶ al 250 x 10⁶ de espermatozoides/ml
- Código 2: 250 x 10⁶ al 150 x 10⁶ de espermatozoides/ml
- Código 1: 150 x 10⁶ al 50 x 10⁶ de espermatozoides/ml
- Código 0: 50 x 10⁶ de espermatozoides/ml (Roca *et al.*, 1993).

Morfología espermática: se coloca una gota de semen en un cubreobjetos y se tiñe con gota de eosina nigrosina, la muestra teñida se extiende a lo largo del cubreobjetos con la ayuda de otro portaobjetos: cuando el frotis se seca, se observa con aumento de 400x y se cuentan 200 espermatozoides registrando los morfológicamente anormales. Las anomalías morfológicas se clasifican en: anomalías primarias (subdesarrollo, doble acrosoma, cabeza pequeña, cabeza en forma de pera, contorno anormal, pieza media anormal, cola enrollada, 2 o más colas, implantación abaxial) y anomalías secundarias (cabezas desprendidas, gota citoplasmática, capuchón desprendido, cola quebrada, cola con dobles simples (Hafez, 2002).

2.8 Lípidos

Los lípidos son un grupo heterogéneo de compuestos vinculados mas por sus propiedades físicas que por las químicas, que se caracterizan por ser insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como éter y alcoholes, realizan importantes funciones bioquímicas y fisiológicas en el organismo animal (Shimada, 2003).

Son bio-moléculas o principios inmediatos compuestos básicamente por carbono, oxígeno (O₂) e hidrogeno (H₂). Aunque algunos lípidos contienen también fosforo (P), nitrógeno (N), azufre (S) (Shimada, 2003).

Estos se dividen en tres tipos

- 1) Simples: Grasas y ceras
- 2) Compuestos. Fosfolípidos (Lecitina, Cefalina y Esfingomielina) y Glicolípidos (Glucolípidos y Galactolípidos).
- 3) Derivados: Ácidos grasos, Alcoholes (Esteroides y Hidrocarburos) (Shimada, 2003).

Las funciones generales que desempeñan los lípidos son cinco:

- 1) Como componentes estructurales de la membrana celular
- 2) Depósito de reservas intracelulares
- 3) Forma de transporte de combustible metabólico
- 4) Aislante térmico y eléctrico
- 5) Agente de protección de las paredes celulares de diversos organismos (Fernández, 2007).

Por lo general los ácidos grasos de interés biológico son los ácidos carboxílicos de número par de átomos de carbono. Se pueden clasificar en cuatro grupos de acuerdo con la longitud de su cadena:

- 1) Ácidos grasos de cadena corta (4-6 átomos de carbono)
- 2) Ácidos grasos de cadena media (8-12 átomos de carbono)
- 3) Ácidos grasos de cadena larga (14-18 átomos de carbono)
- 4) Ácidos grasos de cadena muy larga (20 o más átomos de carbono) (Fernández, 2007). También por su grado de saturación se nombran, a los ácidos grasos insaturados que constituyen una amplia familia de biomoléculas lipídicas cuya estructura básica consta de

una cadena hidrocarbonada lineal (-CH₂ - CH₂ - CH₂ -) que contiene uno o más dobles enlaces, también denominados insaturados, delimitada por un extremo metilo (CH₃) y otro carboxilo (COOH). Si la molécula contiene un solo doble enlace, el ácido graso se denomina monoinsaturado (MUFA), se cambia si contiene dos o más dobles enlaces, se denomina poliinsaturado (PUFA). Teniendo en cuenta la posición del doble enlace más cercano al extremo metilo de la cadena hidrocarbonada, que determina tanto el nombre, como las propiedades físicas y fisiológicas de los MUFA y PUFAs (Coronado *et al.*, 2006).

Los AG insaturados pueden ser clasificados de varias maneras. La de mayor utilidad por su significación patogénica en la aterosclerosis es aquella que los agrupa por el número del carbono donde se ubica el primer doble enlace, antecedido por la letra griega omega (ω). Así se identifican los AG omega-9 (ω 9) como el oleico presente en grasas vegetales y animales, los omega-6 (ω 6), cuyo principal representante es el linoleico presente en los aceites vegetales, y los omega-3 (ω 3) cuyo AG principal es el α -linolénico presente en los aceites marinos y en algunos aceites vegetales.

Los AG insaturados pueden ser cis o trans, en dependencia de la configuración espacial que adopten.

La forma cis se produce cuando los 2 carbonos del doble enlace se sitúan espacialmente del mismo lado y los trans cuando los carbonos están situados en dirección opuesta.

Los AG trans se conforman como consecuencia del calentamiento o la hidrogenación de los AG y ostentan el mismo poder aterogénico que los AG saturados.

Las margarinas obtenidas por hidrogenación de aceites vegetales o marinos pueden contener AG trans, condición que debe aparecer en las etiquetas de los envases de estos productos. Los AG cis no son aterogénicos.

Además de desempeñar multitud de funciones biológicas por sí mismo y a través de su conversión a potentes derivados bioactivos, los ácidos grasos insaturados tienen una función estructural primordial como componentes de los fosfolípidos, de manera que determinan la fluidez de las membranas celulares, y por lo tanto, el comportamiento de las enzimas y los receptores unidos a éstas (Coronado *et al.*, 2006).

2.8.1 Ácidos grasos omega-3

El término ω -3 indica que el primer doble enlace se encuentra en el tercer carbono a partir del final de la cadena de ácidos grasos. La cadena larga omega-3 de origen marino son EPA y DHA, con 20 y 22 carbonos. Los ácidos grasos omega-3 (ácido linolénico) son un tipo de grasa poliinsaturada esencial. Son insaturados porque poseen en su molécula dobles enlaces entre sus átomos de carbono y son esenciales (AGE) porque no puede producirlos el organismo, por lo que deben obtenerse a través de los alimentos.

Existen tres ácidos grasos omega -3:

- **Ácido alfa-linolénico (ALA)**: Se encuentra fundamentalmente en el aceite de las semillas vegetales. Destaca entre ellas, las semillas del lino y especialmente el aceite de lino, también llamado aceite de linaza. Otras plantas ricas en este componente son las semillas de la soja canola, nueces, cáñamo, etc.

- **Ácido eicosapentaenoico: (EPA)**: Se encuentra fundamentalmente en los aceites del pescado azul y en la leche materna. Existen trazas del mismo en la verdolaga.

- **Ácido Docosaheptaenoico: (DHA)**: Se encuentra fundamentalmente en los aceites de pescado azul y en algunas algas microscópicas (Acuña, 2007).

Metabolismos del Acido Alfa-Linolénico (AAL) omega-3

El metabolismo de los ácidos grasos se considera el eje de los recursos energéticos de los animales y el ser humano (Lehninger, 2003; Fernández, 2007).

- 1) Puede pasar a través de un proceso de β -oxidación para producir energía.
- 2) Puede ser reciclado para producir otros ácidos grasos.
- 3) Puede fungir como sustrato para la cetogénesis, es decir el proceso para crear cuerpos cetónicos.
- 4) Puede almacenarse en el tejido adiposo para su uso posterior.

5) Puede almacenarse en los fosfolípidos de las membranas de las células, en donde afecta las actividades de las membranas.

6) Puede convertirse en ácidos grasos omega-3 de cadena larga como el ácido eicosapentanoico (AEP), el ácido docosapentanoico (ADP) y el ácido docosahexanoico (ADH), los cuales tienen funciones importantes en muchos tipos de células y órganos (Gauster *et al.*, 1999).

Derivados del Acido linolenico (ALA) omega 3:

Cuando se consume ácido alfa linoléico (ALA), el cuerpo lo utiliza para producir otros dos ácidos esenciales omega 3 de cadena larga: el **eicosapentanoico (EPA)** y **docosahexanoico (DHA)**. En teoría estos ácidos grasos pueden sintetizarse desde el ALA en forma endógena, pero en la práctica este proceso es ineficiente y por tanto también deben ser suplementados en la dieta directamente (Morris, 2007).

2.8.2 Metabolismo del omega-3

Tras ser adquiridos a través de la dieta, ALA es metabolizada a través de vías enzimáticas de desaturación y elongación que tienen lugar principalmente en el hígado. La enzima 6-desaturasa convierte el ALA en ácido-linoleico que es alargado a ácido eicosapentanoico y este a su vez, en ácido docosahexanoico a través de tres etapas. Primero EPA gana átomos de carbono, dando lugar al ácido docosapentanoico. Luego se añaden dos átomos de carbono, dando lugar al ácido 24:5n-3, que es desaturado y se convierte en el ácido 24:6n-3. Finalmente, este ácido pierde dos átomos de carbono mediante β -oxidación originando DHA (Das, 2006).

2.8.3 Beneficios

1. Son indispensables para el mantenimiento de la estructura de las membranas biológicas porque son elementos constitutivos de los fosfolípidos.
2. Son los precursores de los eicosanoides, que son mediadores químicos a nivel celular.
4. Controlan los procesos inflamatorios.

5. Durante la gestación son componentes de la retina y el cerebro del feto.
6. Inhiben la producción de prostaglandina sintetiza, favoreciendo la tasa de concepción, disminuyendo la mortalidad embrionaria, reduciendo el número de servicios por concepción y favoreciendo la producción de progesterona (Gauster *et al.*, 1999; Petit *et al.*, 2002; Fernández, 2007).
7. Tienen influencia sobre la coagulación, reduciendo la agregación plaquetaria, prolongando el tiempo de coagulación y ejerciendo un efecto beneficioso sobre la deformidad eritrocitaria (Nasiff *et al.*, 2003).

2.8.4 Desventajas

Inhiben la secreción de grasa en la glándula mamaria (Campabadal, 2009).

Los efectos secundarios pueden incluir regusto a pescado, trastornos gastrointestinales (por ejemplo, náuseas, distensión abdominal, eructos), tiempo de sangría prolongado, las elevaciones en LDL-C.

En dosis altas, la complicación más grave pero rara es la pancreatitis, que puede causar dolor, diarrea, vómitos y deshidratación (Palmero, 2009).

2.8.5 Fisiología

Omega-3, son precursores de eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos), unas sustancias con una acción similar a las hormonas, que regulan las funciones celulares y tienen potentes efectos biológicos a dosis muy bajas, entre ellos, potenciando o inhibiendo procesos inflamatorios

El efecto mejor demostrado de los omega-3 en la hemostasia, es modulando la respuesta vascular y plaquetaria ante daños bioquímicos o físicos y disminuye la agregación de estas últimas por varios mecanismos: modulación de la síntesis de prostaglandina plaquetaria, inhibición de la respuesta proliferativa vascular mediada por macrófagos o citoquinas e incrementa la actividad del factor relajante del endotelio, todo esto básicamente por la sustitución de ácido araquidónico por EPA y DHA en los fosfolípidos de membrana (Nasiff *et al.*, 2003).

Los ácidos grasos Omega-3 de cadena larga, son componentes básicos de las membranas celulares y determinan su fluidez y flexibilidad, favoreciendo la neurotransmisión. Si existe una mayor proporción de ácidos grasos saturados, la membrana será más rígida, y cuanto mayor proporción tenga de insaturados, mayor plasticidad. Así, la fluidez de la membrana resulta fundamental para sus funciones moduladoras, ya que en ella encuentran los receptores de hormonas, neurotransmisores y antígenos (Petit *et al.*, 2002; Fernández, 2007; García, 2007).

Los ácidos grasos omega-3 de cadena larga son bien tolerados, y se incorporan muy rápidamente en las membranas celulares. Tan sólo tres horas después de una infusión intravenosa que contiene ácidos grasos omega-3 se detecta un aumento del contenido de ácidos grasos omega-3 en células del sistema inmune, como neutrófilos, linfocitos, monocitos y macrófagos (Fernández, 2007).

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) juegan un papel importante en la regulación de la membrana espermática, la fluidez y la espermatogénesis.

La membrana plasmática es una capa permeable selectiva que cubre toda la superficie de los espermatozoides y cuenta con su componente exterior. La membrana se compone de tres zonas una bicapa lipídica, una interfaz de fosfolípidos de agua y un glicocalix, la mayoría de los lípidos que componen el espermatozoide son fosfolípidos de los ácidos grasos poliinsaturados. Son esenciales para la estructura y función del plasma de la membrana, la integridad de la membrana es de vital importancia para el funcionamiento de los espermatozoides ya que forma una barrera semipermeable para las moléculas, manteniendo y modulando la composición intracelular (Calisici, 2010).

2.8.6 Empleo de los omega-3

En la actualidad existe una amplia gama de productos alimenticios que contienen aceites de pescado que se emplean como suplementos o complementos en la dieta con diferentes fines, entre ellos se encuentran: el mejorar la circulación sanguínea al reducir la cantidad de colesterol, mejorar la respuesta inmunitaria, reducir los problemas de artritis, entre otros, al tratarse de ácidos grasos esenciales, los efectos benéficos por el consumo de éstos podrían verse reflejados en otros aspectos fisiológicos tales como los diferentes procesos involucrados en la reproducción(Nettleto, 1991).

La nutrición constituye uno de los factores de mayor influencia sobre los procesos reproductivos de los animales domésticos, las deficiencias nutricionales redundan en bajos índices reproductivos. En las explotaciones cuniculas la relación nutrición-reproducción es un tema que no está muy estudiado ya que los ciclos de engorda y reproductivos son muy rápidos, es por eso que los estudios de alimentación se han centrado en el cebo que es el 65% del total de una actividad de una granja y en las hembras en lactación que es el 30% de la actividad, con lo cual se tiene poca o nula información acerca de estrategias alimenticias para acortar ciclos reproductivos o como adición de grasas para mejorar respuestas reproductiva.

La demanda energética de hembras reproductoras y gazapos en crecimiento tienen altas necesidades energéticas tanto de las hembras que se encuentran en lactación y gestación como de los gazapos destinados al engorde. Incrementar la energía de la dieta, manteniendo un nivel de fibra mínimo, hace inevitable la inclusión de grasa, con lo cual la adición de grasas en la dieta no modifica el consumo de materia seca, la hembra es capaz de ingerir más energía e incrementar la producción láctea y el peso de la camada al destete, mejorando el índice de conversión. Sin embargo en las hembras primíparas se reportó que la adición en la dieta de grasa no mejora el déficit energético (Xiccato *et al.*, 1997).

Específicamente los ácidos grasos poliinsaturados han sido motivo del estudio por la relación que tienen con los diversos procesos reproductivos al ser suministrados en la dieta, además de favorecer los procesos de dinámica folicular, en el útero ayudan al establecimiento de la gestación, por la disponibilidad de los mismos para formar parte de reservas energéticas necesarias durante la preñez, o bien incrementar la

concentración plasmática de hormonas que de manera directa o indirecta influyen en el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular en el folículo ovárico, situación por la que también se ha estudiado el efecto de algunos aceites y otro lípidos en esquemas de ovulación múltiple (Herrera *et al.*, 2008).

En cuanto a investigaciones de reproducción en conejos especialmente las de la adición de grasas son pocos los datos existentes. Por tal motivo se considera importante la investigación de la relación nutrición, reproducción en esta especie, adicionando grasas de pescado en la dieta como estrategia nutricional para incrementar y acelerar algunos procesos reproductivos que sean benéficos para la productividad de las explotaciones. Se han publicado un muchos estudios en cuanto a ganado, cerdos y ovinos, de los efectos fisiológicos que han manifestado al adicionar ácidos grasos (omega 3), en las dietas como estímulo reproductivo (Lleonart, 2005).

Se conoce que las membranas plasmáticas están constituidas por diferentes ácidos grasos, además de proteínas y colesterol, de tal manera que la adición de los omega-3 contenidos en el aceite de pescado podrían mejorar la calidad de las membranas plasmáticas tanto de los gametos femeninos como los masculinos y en consecuencia mejorarían la calidad embrionaria (Penny *et al.*, 2002). Además mejora la masa muscular (mejora la actividad de la insulina y por lo tanto los nutrientes llegan mejor a los músculos), mejora la Fuerza y resistencia (disminuye la viscosidad de la sangre y hace que las células rojas sean mas flexibles) y Mejorar la calidad del semen (lo hace más resistente a la congelación) (Galeano, 2006).

Se utilizan lípidos en la dieta de bovinos de carne como nutracéuticos reproductivos (Williams *et al.*, 2005).

El uso de Omega 3 en animales se ha asociado a tratamiento de dermatitis en perros, hiperlipidemias, enfermedades degenerativas y cardiovasculares. Estudiaron la inhibición de la aterosclerosis en cerdos por aceite de hígado de bacalao. Algunos autores han correlacionado la ingesta de omega-3 con mejoras en el desempeño reproductivo que estarían asociadas no solo a la mejora de la condición general de las madres sino a la regulación positiva de ciertos mediadores químicos que favorecen la preñez (Mattos *et al.*, 2000).

La presencia de ácidos grasos esenciales omega-3, presentes en gran cantidad en el aceite de pescado, son fundamentalmente beneficiosos en la función antiinflamatoria al generar un descenso de la producción de citoquinas inflamatorias, responsables de síntomas como la anorexia, tan frecuente y complicada de manejar en medicina felina (Palmero, 2009).

En los conejos el aporte de ácidos grasos esenciales ocurre mediante el consumo de forrajes (vegetales), y debido a los cambios en los sistemas productivos de extensiva a intensiva se requiere de mayores aportes nutricionales para lograr cubrir dicha demanda (Lleonart, 2005).

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 en las conejas aumentan la fertilidad, prolificidad y producción lechera (Lleonart, 2003). Además da vitalidad al sistema nervioso central, especialmente en recién nacidos, aumento de la protección celular y anticuerpos (Conejos-info, 2005).

Estudios realizados en conejos, han demostrado que la adición de omega-3 (ALC) a una dieta semisintética que aporta 14% de grasa, produce una disminución significativa del colesterol-LDL y de los triglicéridos plasmáticos, produciendo al mismo tiempo una disminución de la relación colesterol-LDL/colesterol-HDL, y una disminución de la acumulación de placas ateroscleróticas en los grandes vasos (Sanhueza *et al.*, 2002).

En cerdos alimentados con ácidos grasos poliinsaturados (omega -3) presentan un mayor número de células T, B y bajos niveles de mediadores de inflamación comparados con animales que no reciben suplementación (Sanz *et al.*, 2000; Camacho, 2006).

Los ácidos Omega-3 forman parte de las membranas de la célula y por eso influyen en su permeabilidad (Denyer, 2002; González, 2009). Los ácidos grasos omega-3 se incorporan en los triacilgliceroles (triglicéridos) y los fosfolípidos de las membranas de las células, en donde éste afecta la manera en que los nutrientes son transferidos dentro y fuera de la célula, esto es porque las células se comunican unas con otras (Denyer, 2002; González, 2009).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

El empleo de los ácidos grasos (omega 3) dentro de los sistemas de cunicultura mexicana no han sido investigados y mucho menos el efecto directo de los omega 3, sobre la reproducción de los conejos machos, Por lo que se requiere conocer con mayor precisión el efecto de éstos sobre la calidad espermática y si tiene impacto a la fertilidad de los conejos machos. Actualmente existe la necesidad de mejorar aspectos reproductivos como fertilidad, fecundidad, disminución de los abortos, aumento del número de nacidos vivos, etc. Lo cual representa perdidas económicas y productivas en las granjas tanto de conejos como de otras especies. Por lo anterior mencionado el interés del presente trabajo.

4. HIPÓTESIS

Los ácidos grasos (omega 3) administrados vía oral incrementan el volumen del eyaculado, mejorando la calidad del semen y aumentando la fertilidad de los sementales.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración de los ácidos grasos (omega-3) sobre el calidad del semen y la fertilidad de los conejos machos (*Oryctolagus cuniculus*).

Objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto de la administración de los ácidos grasos (omega 3) sobre la calidad seminal.
2. Evaluar el efecto de la administración de los ácidos grasos (omega 3) sobre la fertilidad de los conejos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Localización.- El presente estudio se realizó en el periodo comprendido de marzo 2010 a febrero 2011, en el sector cunícola de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicado en el Km 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro, dentro del municipio de Tarímbaro al noreste de la capital de Michoacán. El clima que predomina es templado con lluvias en verano, con una precipitación media anual de 773.9mm, temperatura media de 18.6°C y una altura sobre el nivel del mar de 1860m. Geográficamente la zona se encuentra entre los paralelos 19° 48' de latitud norte y los meridianos 101° 11' de longitud oeste (INEGI, 2004).

Animales.- Se utilizaron 16 conejos machos con edades de 4 ½ meses de edad, con 3.5 a 4 kg de peso vivo, 4 de las razas Nueva Zelanda, 4 Chinchilla y 5 California. 70 hembras adultas, con al menos un parto previo, cruzadas de las razas California, Nueva Zelanda y Chinchilla.

Manejo alimenticio.- Los sementales fueron alimentados con un alimento comercial (ver cuadro abajo sobre su composición nutricional), a razón de 140 g al día y agua *ad libitum*. Las hembras recibieron una alimentación *ad libitum* cuando estaban lactantes y de 160 g en la etapa de gestantes no lactantes, del mismo alimento que a los sementales. En el cuadro 1. Se presenta el contenido de nutrientes que muestra la etiqueta del alimento comercial utilizado para la alimentación de los machos y hembras.

| Cuadro No. 1 Composición nutricional del alimento | % |
|---|------|
| Humedad, max. | 12.0 |
| Cenizas, max. | 10.0 |
| Fibra, max. | 16.0 |
| Proteína, min. | 16.0 |
| Grasa, min. | 2.5 |
| E.L.N., min. | 43.5 |

Tratamientos

Los conejos fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos; un grupo control (n=8) que recibió solo el alimento comercial (GC; n=8) y el grupo experimental (GA; n=8) al cual recibió el alimento más aceite ω -3 a razón de 40 mg kg/pv, el cual fue administrado de manera directa vía oral en una sola toma diariamente, por espacio de 28 días, los conejos del GC fueron tratados de manera similar y recibieron 3 ml de agua simple.

Recolección del semen. La recolección de semen, se realizo en la jaula del macho, mediante el uso de la vagina artificial utilizando una coneja como maniquí. Una vez obtenida, la muestra de semen, el recipiente colector, se colocó en baño maría a 38 °C. Los conejos de ambos tratamientos fueron sometidos a la colecta de semen dos veces por semana.

Calidad seminal. La calidad seminal incluyo el examen macro y microscópico del semen.

En el examen macroscópico se registro evaluó el volumen de eyaculado. Las muestras con color atípico (amarillo, contaminadas con sangre o con orina), no fueron consideradas en la evaluación microscópica y los datos no fueron utilizados en el análisis de a información.

En el examen microscópico se evaluó la concentración, morfología, motilidad masas e individual.

Concentración espermática: se realizo una dilución del 1:200, para lo cual se tomo semen hasta la marca de 0.5 de la pipeta de Thoma y se adiciono diluyente hasta la marca de 101; se agita para combinar el semen y el diluyente, se desecharon las primeras 3 gotas de la pipeta. Posteriormente se lleno una cámara de Neubauer, colocando la pipeta en la hendidura entre la cámara de Neubauer y un cubreobjetos hasta que se lleno por capilaridad. Para el conteo se tomaron 5 cuadriles (las 4 esquinas y el centro), se contaron los espermatozoides en cada cuadrícula y los que estuvieron sobre la línea marginal superior e izquierda.

Morfología espermática: se colocó una gota de semen en un portaobjetos y se tiñó con 1 gota de eosina nigrosina, la muestra teñida se extendió a lo largo del portaobjetos con ayuda de otro portaobjetos. Cuando el frotis se seco se observó con aumento de 100x y se contaron 200 espermatozoides registrando los anormales.

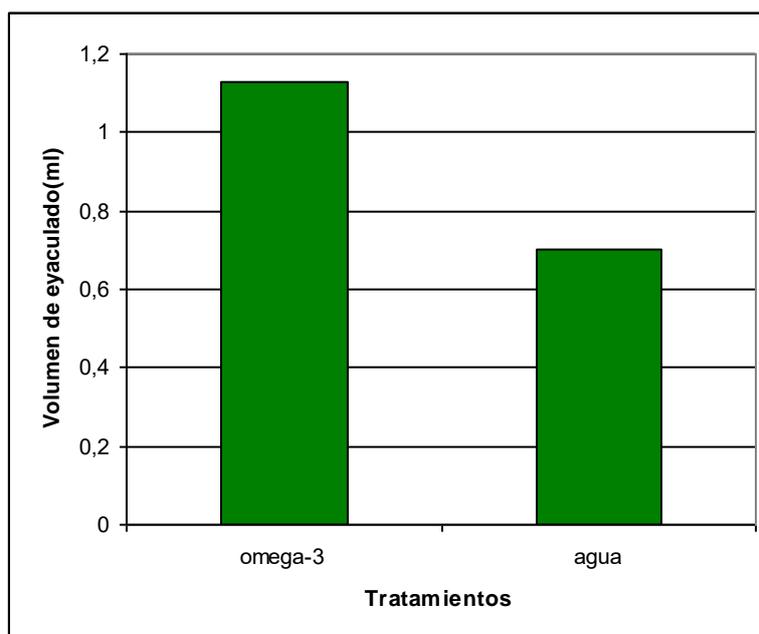
Movilidad espermática: para evaluar la movilidad (masal e individual) se tomó una gota de semen, la cual se colocó en un portaobjetos y se cubrió con el cubreobjetos a 37°C y se observó a un aumento de 100x, la valoración se realizó de manera subjetiva a partir de una escala arbitraria de 10 niveles, registrado de 1 a 5. En la movilidad individual el factor a evaluar fue el movimiento progresivo rectilíneo y en el masal fue el movimiento en ondas.

Fertilidad. Las hembras fueron distribuidas en dos grupos de (n=35) que fueron servidas por monta natural, por un periodo de seis semanas, el primer grupo recibió monta de los machos suplementados con omega-3 y el segundo con los machos del grupo control. Se registró el número de gazapos nacidos. Las conejas no recibieron tratamiento alimenticio adicional, solamente el alimento comercial de la explotación y agua *ad libitum*.

Análisis estadístico. Las variables de estudio consideradas en el presente trabajo fueron calidad seminal que incluyó volumen de eyaculado (ml), concentración espermática (millones x ml), la motilidad masal (%), individual (%), morfo-anomalías (%), viabilidad espermática (%) y fertilidad. Los resultados obtenidos de la calidad seminal fueron analizados, mediante el procedimiento de modelos lineales generales (GLM) en un diseño de bloques al azar donde la semana de muestreo fue considerada como bloque, mientras que la administración o no de aceite ω -3 fue considerada como tratamiento. Antes del análisis los resultados de motilidad masal (%), individual (%), morfo-anomalías (%) y viabilidad espermática (%) fueron transformados al valor arco seno. Todos los análisis fueron realizados con el uso del paquete estadístico SAS (SAS, 2000).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

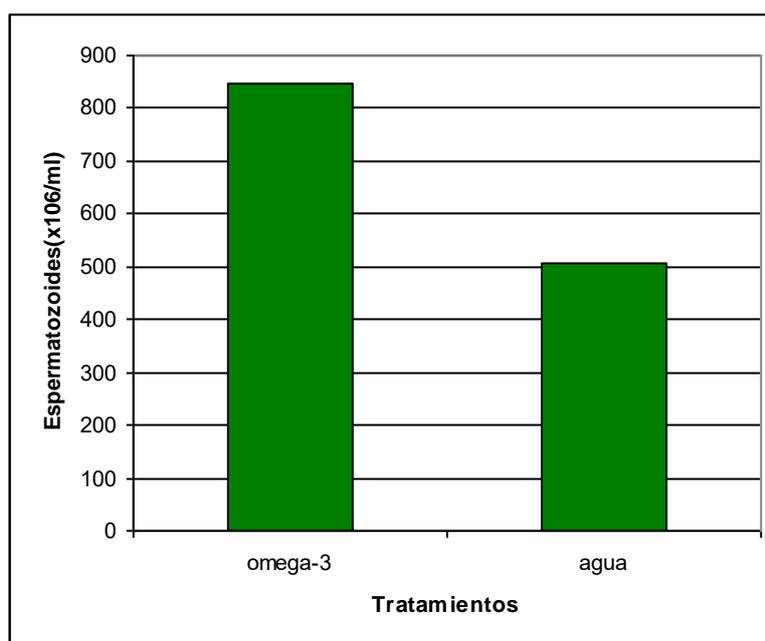
El volumen de eyaculado (grafica 1) se vio modificado ($P < 0.001$) por el consumo de aceite ω -3, observando un incremento de 0.4 ml en los conejos del grupo experimental (1.13 ml) con respecto a los del grupo control (0.7 ml), lo que representa un aumento del 38% de volumen del eyaculado. El resultado obtenido en este trabajo concuerda con Dolatpanah *et al.* (2008) que señalan un incremento del volumen del eyaculado con la suplementación de omega 3 (0.839 ml vs 0.907 ml) entre el grupo control y el tratado con aceite de pescado (2.50%). Sin embargo estos resultados difieren de lo encontrado por Castellini *et al.* (2003), quienes no observaron diferencia en el volumen (0.56 ml vs 0.56 ml) del grupo control y el tratado con aceite de pescado (2%).



Grafica 1. Volumen (ml) de eyaculado en conejos con y sin suplementación con ácidos grasos omega-3.

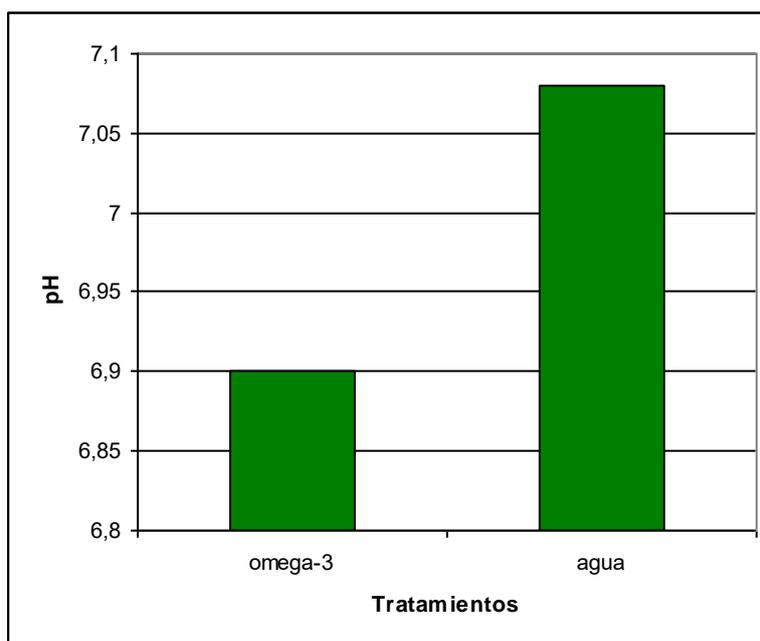
La concentración espermática (grafica 2), fue superior ($P < 0.001$) en el grupo experimental (847.36×10^6 espermatozoides/ml) respecto al grupo control (507.46×10^6 espermatozoides/ml). Este resultado es similar a los estudios recientes de Castellini, 2008; reportando un efecto positivo de la adición de ácidos grasos omega-3 sobre la

calidad espermática, ya que su adición en la dieta de conejos, ya sea como aceite de pescado (2%), semilla de linaza (5 y 20%), incrementaron la concentración de espermatozoides (410, 389 y 493 vs 353 x10⁶, en los 3 tratamientos con omega 3 respectivamente vs sin omega). Dolatpanah *et al*, 2008; de manera similar encontró un efecto positivo de la adición de ácidos grasos omega 3 sobre la calidad espermática (P<0.05), (398.14 x 10⁶ vs 386.57 x 10⁶, respectivamente). Castellani *et al*. (2006) tuvieron un efecto positivo en la adición de semillas de lino (20%) incrementando la concentración de espermatozoides (493 x10⁶ vs 335 x10⁶; P<0.01). Por su parte Castellini *et al*, 2003; no encontró aumento en la concentración de espermatozoides del grupo tratado con aceite omega-3 y del grupo control (395.0 x10⁶/ml vs 397.5 x10⁶/ml).



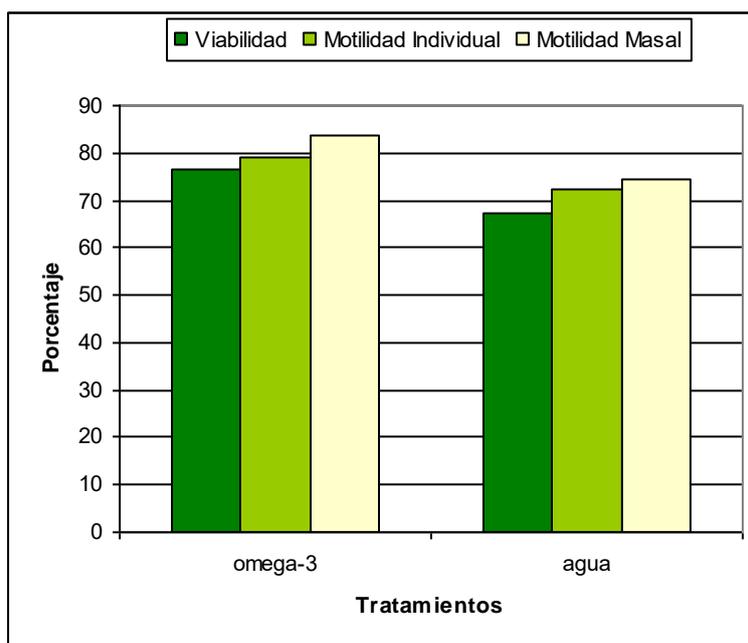
Grafica 2. Concentración espermática (x10⁶/ml) en el eyaculado de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos omega-3.

En cuanto al pH (grafica 3) el semen del grupo de conejos suplementados con ácidos grasos omega-3 se observó una media 6.9, valor que fue inferior registrado en el grupo control (7.08).



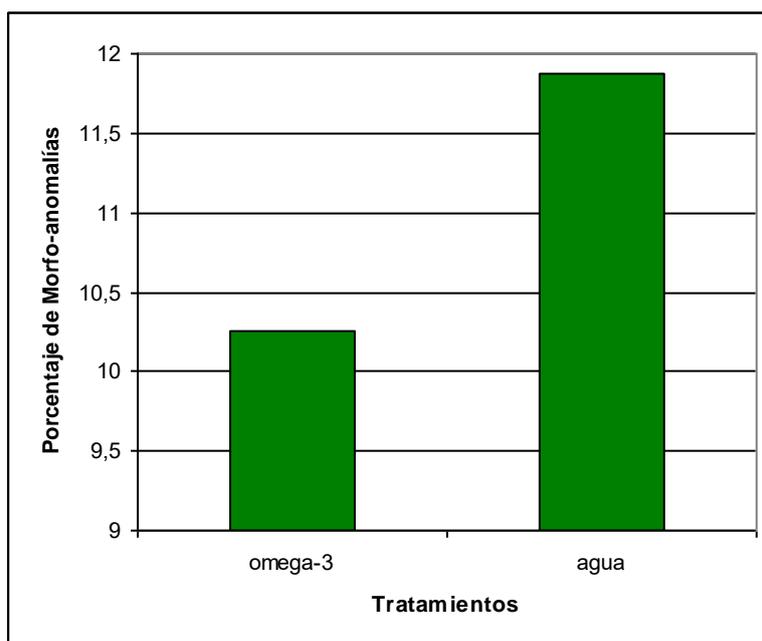
Grafica 3. pH del eyaculado de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos omega-3.

Los resultados observados de la viabilidad, motilidad espermática, tanto en masa como individual (grafica 4), fueron superiores ($P < 0.001$) en el grupo suplementado con ácidos grasos ω -3 (76.5, 83.62 y 79.25 %, respectivamente), que en el grupo control (67.37, 74.75 y 72.25, respectivamente). Este efecto también lo reporta Dolatpanah *et al.* (2008) señalando un aumento en la viabilidad y motilidad espermática ($P < 0.05$) en el grupo alimentado con omega-3 (87.029 y 83.729 %) en comparación con el grupo control (85.903 y 82.603). Castellani *et al.* (2008) al igual que los resultados anteriores obtuvieron un aumento en la motilidad espermática (76.6, 72.9 y 79 vs 69.9%, respectivamente), del grupo alimentado con aceite de pescado (2%), semilla de linaza (5 y 20%) en comparación al grupo control.



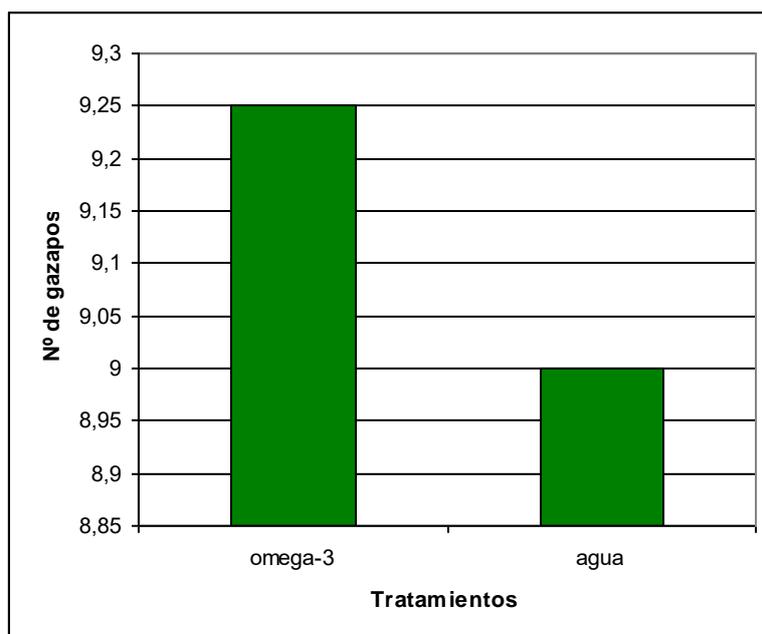
Grafica 4. Viabilidad, motilidad en masa e individual de los espermatozoides de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos omega-3.

En cuanto a las morfo-anomalías (grafica 5), se encontró un efecto positivo y significativo ($P < 0.001$) de la administración ácidos grasos ω -3, observado una reducción de 1.6% de anomalías espermáticas respecto del grupo control (11.87%). Dolatpanah *et al.* (2008) obtuvieron una disminución en las morfo-anomalías ($P < 0.05$) en el grupo alimentado con omega-3 (27.631%) en comparación con el grupo control (31.89%).



Grafica 5. Morfo-anomalías en los espermatozoides de conejos con y sin suplementación con ácidos grasos omega-3.

En la fertilidad (grafica 6), no se encontró diferencia significativa en las conejas que recibieron semen adicionado con ω -3 en comparación a las del grupo control, observando un promedio de 9.23 ± 2.6 vs 9.0 ± 2.34 gazapos, respectivamente.



Grafica 6. Fertilidad de las conejas con semen adicionada con omega-3 y sin adición de omega-3

7. CONCLUSIONES

La suplementación de omega-3:

- Aumenta el volumen del eyaculado.
- Incrementan la concentración espermática.
- Disminuyen el pH.
- Aumentan la viabilidad y motilidad espermática, tanto en masa como individual.
- Disminuye las morfo-anomalías en el semen de los conejos,
- No se encontró un incremento en la fertilidad de las conejas que recibieron semen suplementado con omega-3.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, P. (2007). Componentes esenciales, ¿qué son los omega 3? [en línea] INTA. www.produccion-animal.com.ar [Consulta: 26 de octubre, 2010]
- Alvariño, R.M. (1993). Control de la reproducción en el conejo. Ministerio de agricultura y pesca y alimentación. Madrid (España).Pp. 195-212.
- Avalos, R. A. (1998). Estudio de la asimetría de la membrana plasmática del espermatozoide de conejo durante la capacitación y reacción acrosomal. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. México DF.Pp.12-15.
- Calisici, O. (2010). Investigation of antioxidative capacity in bovine seminal plasma— Effects of Omega-3 fatty acids. Hannover (Alemania).Pp.2-4.
- Camacho, C. S. (2006). Inmunidad y control de enfermedades. [en línea] INTA www.lamolina.edu.pe/.../Inmunidad%20y%20Control%20De%20Enfermedades%20En%20... [Consulta: 15 de octubre, 2010]
- Campabadal, C. (2009).Efecto de la nutrición sobre la reproducción. Congreso lechero San Carlos. Costa Rica.
- Castellini, C., Lattaioli, P., Dal Bosco, A., Minelli, A., Mugnai, C. (2003). Oxidative status and semen characteristics of rabbit buck as affected by dietary vitamin E, C and n-3 fatty acids. *Reproduction Nutrition Development* 43:91-103.
- Castellini, C. Cardinali, R. Dal Bosco, A. (2006). Effect of collection rhythm on spermatozoa and droplet concentration of rabbit semen. *Reproduction Nutrition Development* 14:101-106.
- Castellini, C. (2008). Semen production and management of rabbit bucks. *Proceedings of the 9th World Rabbit Congress*. Verona (Italy).81-96.
- Castellano, C. Audet, I. Bailey, J.L. Chouinard, J. Laforeste, P. y Matte.JJ. (2010). Effect of dietary n-3 fatty acids (fish oils) on boar reproduction and semen quality. *Reproduction Nutrition Development* 88: 2346-2355.
- Conejos-info. 2005. Optomega-50: Un Mejorador Reproductivo. *Conejos-info*. 12:12
- Coronado, H. M., Vega, L. S., Gutiérrez, T. R., García, F. B., Díaz, G. G. (2006). Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: nutrición, bioquímica y salud. *Revista de Educación Bioquímica* 25: 003.
- Correa, Martín. (2002). “Manejo de conejos en granja” [en línea]. INTA.http://www.inta.gov.ar/salta/info/documentos/conejo/conejo_ac.htm#man_e [Consulta: 18/0311].
- Cruz, H. A.R., Huerta, M., Lugo, R. V. (2009). Conejos guía de producción. 1ª edición. Ed. Papiro omega, SA. De. C.V. México.73-78.
- Cunningham, G. J., Klein, G. B. (2009). *Fisiología Veterinaria*. 4a Edición. Barcelona España. 519-521.
- Daley, C. A., Abbott. A., Doyle, S. P., Nader, G.A., Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal* 9:1186-1475
- Das, U.N. (2006). Essential fatty acids-A review. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 7:467-482.
- Dolatpanah, M. B., Towhidi, A., Farshad, A., Rashidi, A., Rezayazdi, A. (2008). Effects of dietary fish oil on semen quality of goats. *Animal Reproduction Science*.21:29-34.
- Eddy, E. M. (2006). *The spermatozoon in Knolbil and Neill’s Physiology of reproduction*. Third edition. Elsevier. United States of America. Pp 4-28.

- Egea de P. Ma. D. (1993). Fisiología de la reproducción en el conejo doméstico. Boletín de Cunicultura 69: 44-49.
- Fernández, N. J. (2007). Suplementación de la dieta con aceite de pescado rico en ácidos grasos poliinsaturados n-3. Estrategias a practicar para potenciar su consumo. Tesis Doctoral. Ciencias. Universidad de Granada (España) Pp. 167-193.
- Galeano, L.V. (2006). Metabolismo de lípidos, nutrición animal básica. [en línea] INTA agronica.udea.edu.co/.../Nutricion/Nutrición%20y%20Alimentación%20animal/Lípidos%20jun%202006.ppt... [Consulta: 15 de octubre, 2010]
- García, M. R. (2000). Efecto de los inhibidores de H-ATP asas durante la maduración, capacitación y reacción acrosomal del espermatozoide de conejo. Tesis doctoral. Ciencias Biológicas. México Pp. 1-9.
- Garner, D., Háfiez, E. (2000). Spermatozoa and Seminal Plasma. Reproduction in farm animals. 7th edition. Lippincott Williams & Wilkins Company, Philadelphia Pp. 96-109.
- Gauster, L. B., Guesnet, P., Duracq, G., Antonie. J. M., Alessandri, J. M. (1999). N-3 and n-6 fatty acid enrichment by dietary fish oil and phospholipids sources in brain cortical areas and neutral tissues of formula fed piglets. Lipids 34: 5-16.
- González, A.P.2009. Efecto protector de los ácidos grasos omega-3en el hígado y en el tejido adiposo. [en línea] INTA www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX...//AGP_TESIS.pdf [Consulta: 20 de octubre, 2010]
- Gilbert, F. Scott. (2005). Biología del desarrollo. Editorial Médica Panamericana. 7ª Edición. México. Pp. 197-210.
- Hafez, E.S.E., Hafez, B. (2003). Reproducción e inseminación artificial en animales.7a edición. Ed. Mc Graw-Hill. México. pp. 37-46, 57, 70-79, 94-96 y 153-155.
- Hafez, E. S. E. (2002). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª ed. McGraw-Hill. México, DF. Pp. 519.
- Herrera-Camacho, J. Aké-López R., Ku-Vera, J. C., Williams, G. L., Quintal-Franco, J. A. (2008). Respuesta ovulatoria, estado de desarrollo y calidad de embriones de ovejas Pelibuey superovuladas y suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados. Técnica Pecuaria México 46:107-117.
- INEGI. (2004). Secretaría de Desarrollo Social. Consejo Nacional de Población. Delimitacion de las Zonas Metropolitanas de México. D.F (México).
- Lavara, R., Moce, E., Lavara, F., Viudes de Castro, M. P., Vicente, J. S. (2005). Do parameters of seminal quality correlate with the result of on-farm inseminations in rabbits?. Theriogenology 64: 1130-1141.
- Lehninger, A. L. (2003). Cap 24 Biosíntesis de los lípidos en Bioquímica. 19 reimp. Ed. Omega. Barcelona, España. Pp. 671-703.
- Lleonart, R. F. (2003). Resultados de los ácidos eicosapentanoico y docosahexanoico (EPA y DHA) sobre la fertilidad, prolificidad y producción lechera de las conejas. Nutrición y Terapéutica Veterinaria, S. L. Pp.450
- Lleonart, R. F. (2005). Ácidos Omega-3. Nutrición y Terapéutica Veterinaria, S. L. Pp. 138.
- Luciano C., Salles E. 2002. Manejo reproductivo del conejo de carne: Inseminación artificial [enlínea] INTA. <http://www.conejosyalgomas.com.ar/articulos>> [Consulta: 3 Mayo, 2011].
- Kuster y Althouse. (2007). Physiology of Reproduction. Knobil and Neill's. Elsevier. San Francisco (USA).Pp 55-70.

- Mattos, R., Staples, C. R., Thatcher, W. W. (2000). Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Journal of reproduction and fertility: Reviews of Reproduction* 5:38-45.
- McDonald, L. E. (2003). Male reproductive system in *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5ª edición. Ed. Mauricio H. Pineda. Michael P. Dooley. Iowa EUA Pp 254.
- Morris, DH. (2007). *Linaza – Un Producto Premier de Salud y Nutrición*. Winnipeg, MB: Consejo Canadiense de Linaza. Pp.265
- Nasiff, A. H., Meriño, E. I. (2003). Ácidos grasos omega-3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. *Revista Cubana* 42:213-215
- Nettleton, J. A. (1991). Omega -3 Fatty acids: Comparison of plant and seafood sources in human nutrition, *Journal of the American Dietetic Association* 91:331-337.
- Palmero, C.L. (2009). Suplementos dietéticos en alimentación felina. *Gattos Centro Clínico Felino*. [en línea] INTA www.gattos.net [Consulta:20 de noviembre , 2010]
- Penny, M., Kris-Etherton, Ph. D., William, S., Harris, Ph. D., Lawrence, J. Appel, R. D. (2002). Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Nutrition Committee, Circulation*. 106:2747-2757.
- Petit, H. V., Dewhurst, R. J., Scollan, N. D., Proulx, J. G., Khanlind, M., Haresign, W., Twagiramungu, H., Mann, G. E. (2002). Milk production and composition, ovarian function and prostaglandin secretion of dairy cow fed omega-3 fats. *Journal of Dairy Science* 85: 888-899.
- Roca T. (1980). *Tratado de cunicultura. Principios básicos. Tomo II*. Real escuela oficial y superior de avicultura. Barcelona. Pp. 11-113.
- Roca, T., Fonlo, R., Alace, M. (1987). Inseminación artificial en cunicultura. Situación y perspectivas de la cunicultura en México. Seminario 11, 12 y 13 de agosto. Universidad Autónoma de Chapingo. Centro de investigaciones científicas del estado de México. Edo. de México. p. 34-41. info.com/articulos/razas-de-conejos [Consulta: 9/03/11].
- Roca T., Melero I., García J. (1995). Efecto de la iluminación, la temperatura ambiental y la higrometría, sobre la producción de semen en un genotipo de conejo para carne. *Boletín de cunicultura*. 18:59-61.
- Roca T., Casas J. M., De García J. (1993). Efecto de los factores ambientales sobre las características del semen de conejo. *Boletín de cunicultura (Argentina)*. 16:6-70.
- Roca, T. (2008). Razas de Conejos. [en línea] INTA www.engormix.com/...razas-conejos.../103-p0.htm [Consulta: 20 de noviembre, 2010]
- Rodríguez, L. R. (1998). *Anatomía y fisiología de la reproducción en el conejo*. Universidad Autónoma de Chapingo. Depto. de Zootecnia. México. Pp. 10-61
- Rodríguez, P.H. (1999). Aspectos reproductivos en los conejos. *Colegio de ciencias agrícolas*. W. Puerto Rico. Pp. 1-11.
- SAS. (2000). *Statistical Analysis System*. Institute Inc. North Caroline. USA.
- Sanz, E., Mercado, E., Gómez, E., García, A., Casado, E., Rodríguez, A. Influencia de la fuente de grasa y del uso de emulsiones en los índices productivos de lechones destetados precozmente. Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL. *Premix Ibérica S.A-INVE*. Pp. 365.
- Sanhueza, C. J., Nieto, K., Valenzuela, B. A. (2002). Acido Linoleico Conjugado: Un Acido Graso Con Isomeria Trans Potencialmente Beneficioso. *Revista chilena de nutrición* 29: 2-15.

- Shimada, A. M. (2003). Nutrición Animal. Editorial Trillas. México, D.F. Pp. 142-162.
- Simopoulos, A. P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *Clinical Nutrition*. 70: 560S-569.
- Turner, R.G. (2003). Cuentos de la cola: ¿Qué sabemos realmente sobre la motilidad del esperma. *J. Androl*, 24: 790-803.
- Williams, G. L., Stanko, R. L. (2005). Ovarian, hormonal, and reproductive events associated with synchronization of ovulation and timed appointment breeding of *Bos indicus*-influenced cattle using intravaginal progesterone, gonadotropin-releasing hormone, and prostaglandin F_{2α}. *Journal of Animal Science* 85:151-162.
- Xiccato, G., Trocino, A. (2007). Italia, un sistema de producción cunícola integrada. II Congreso Ibérico de Cunicultura, XXXII Simposium de ASESCU, IV Jornadas Internacionais da APEZ, Vila Real (Portugal), Pp. 175-184.
- Zarate, B. P. I. (2006). La Reproducción del Conejo Doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) y el Desarrollo de las Nuevas Tecnologías Reproductivas. Servicio Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UMSNH.