



Universidad Nacional Autónoma de México

---

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN CON MONTA NATURAL UTILIZANDO  
MACHOS VASECTOMIZADOS O ANÁLOGO SINTÉTICO DE GnRH EN  
CONEJOS NUEVA ZELANDA BLANCO

TESIS  
QUÉ PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA  
**VERÓNICA ALCÁNTAR RODRÍGUEZ**

Asesora:  
MVZ. G. HILDA JANDETE DÍAZ



México, D. F.

2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo lo dedico a mis padres, J. Jesús Alcántar Díaz y María Reina Rodríguez Gordillo por todo el esfuerzo que han realizado por darme el mejor regalo que se le puede dar a un hijo, el estudio. Por apoyarme y alentarme a seguir siempre adelante, guiando mis pasos por el mejor camino posible, gracias por su amor, paciencia y comprensión hasta en los momentos más incomprensibles, por acompañarme en el largo camino para alcanzar esta meta, por eso y mucho más la presente tesis también es un logro suyo, los amo con toda mi alma.

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) y al Dr. Ernesto Ávila González por las facilidades brindadas para realizar el presente trabajo dentro de sus instalaciones.

A mi asesora, la MVZ. Hilda Jandete Díaz, muchas gracias por todas sus enseñanzas, apoyo, paciencia y consejos en el largo camino que emprendimos al iniciar este trabajo que hoy vemos concluido.

Un agradecimiento muy especial al MVZ. MC. Arturo Cortes Cuevas, por todo el trabajo, tiempo, paciencia, compañía y palabras de aliento invertidos en la realización de esta tesis.

A mi jurado, los Médicos Veterinarios Zootecnistas: Verónica Graullera Rivera, Octavio Mejía Villanueva, Marisa Vázquez García, Hilda Jandete Díaz y Yasmín Mitzi Vargas por la revisión del presente trabajo y sus valiosas aportaciones al mismo.

A mi hermana Erika Alcántar, por estar siempre junto a mí y apoyarme en la elaboración de este trabajo.

A la MVZ. Betzabé Tapia Báez por su amistad y conocimientos transmitidos.

A Josué Manuel Valdes Fuentes, por los buenos y malos momentos que pasamos juntos porque de todo aprendemos algo nuevo que nos hace crecer día a día.

A mis compañeros del CEIEPAv, Liliana Diosdado, Enrique, Liliana Castro, Diego, Marcos, Francisco, Pamela, Lorena, Raquel, Edna, Vicente, Araceli y Fernando por su apoyo en la realización de esta tesis y hacer el trabajo más ameno.

A mis amigos de la FMVZ Alicia, Norma, Flor, Quetzalli, Carmen (q.e.p.d), Edgar, Víctor, Martha, Paula, Carlitos, Jorge, Myrna, Rocío y Paola por el tiempo que pasamos juntos, las alegrías y tristezas compartidas.

A los animales.

## CONTENIDO

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Justificación.....	60
Hipótesis.....	61
Objetivo.....	61
Material y métodos.....	62
Resultados.....	65
Discusión.....	67
Conclusiones.....	70
Bibliografía.....	71
Anexos.....	76

## RESUMEN

**ALCÁNTAR RODRÍGUEZ VERÓNICA.** Inducción de la ovulación con monta natural utilizando machos vasectomizados o análogo sintético de GnRH en conejos Nueva Zelanda Blanco (Bajo la dirección de la MVZ. Guadalupe Hilda Jandete Díaz).

El presente experimento se realizó con la finalidad de evaluar dos métodos de inducción de la ovulación (monta natural con macho vasectomizado y análogo de GnRH) y su efecto en el número de hembras gestantes, así como: número de nacidos totales, número de nacidos vivos, número de nacidos muertos, peso de la camada al nacimiento, número de gazapos destetados totales, peso de la camada al destete y número de muertos en lactancia. Se utilizaron 50 hembras reproductoras (nulíparas, de segundo y tercer parto, distribuidas al azar) de 4 a 7 meses de edad, divididas en 2 grupos de 25 animales por tratamiento, 2 machos vasectomizados de 7 y 8 meses de edad y 1 macho fértil de 2 años de edad para la recolección de semen, de la raza Nueva Zelanda Blanco (NZB). Se empleó un análisis de varianza mediante la prueba de T de Student para las variables: número de hembras gestantes y no gestantes, número de nacidos totales, número de nacidos vivos, número de nacidos muertos, peso de la camada al nacimiento, número de gazapos destetados totales, peso de la camada al destete y número de muertos en lactancia. Los tratamientos fueron: 1.- Conejas con ovulación inducida con gonadorelina y 2.- Conejas con ovulación inducida con macho vasectomizado. Los resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) para

todas las variables analizadas, favoreciendo el empleo de la gonadorelina para la inducción de la ovulación en comparación con el empleo de machos vasectomizados.

## **INTRODUCCIÓN**

Los primeros registros de la inseminación artificial (IA) datan del siglo XIV, donde una tribu árabe relata la inseminación de una yegua con el semen de un garañón.<sup>1</sup>

En Italia, 1784, Lázaro Spallanzani realiza con éxito la primera inseminación experimental en una perra. En 1890, Hape en Inglaterra propuso el nombre de inseminación artificial y en 1905 demostró que la ovulación en la coneja es inducida por estímulos asociados al coito y que ésta se produce entre 10 y 12 horas después. Iwanow entre los años 1930 a 1989 en Rusia revoluciona la inseminación artificial en equinos, bovinos, ovinos y animales silvestres al utilizar la dilución, conservación y transporte de semen; posteriormente se construyen las primeras vaginas artificiales para perros, bovinos y cerdos. En conejos la primera vagina artificial fue ideada en Rusia por Kardymovic y Milovanov en 1932.<sup>2,3</sup>

La IA fue la primera biotecnología aplicada para mejorar la reproducción y genética de los animales domésticos, teniendo un gran impacto en diferentes especies animales, particularmente en vacas lecheras. La aceptación mundial de la esta técnica ha permitido el desarrollo de otras tecnologías como la criopreservación y sexado de espermatozoides, la regulación del ciclo estral, la congelación y transferencia de embriones.<sup>2</sup>

La IA consiste en la deposición del semen en el sistema reproductivo de la hembra por medio instrumental, con la finalidad de colocar las células sexuales masculinas en los órganos genitales de la hembra, sustituyendo así el pene del macho. Es una técnica que ha ido adquiriendo mayor importancia especialmente en Francia, Italia y España, debido a que los cunicultores se han visto obligados a cambiar el

sistema de producción, diversificar la actividad y aumentar el tamaño de explotación.<sup>2, 4, 5, 6</sup>

La IA es una técnica planteada especialmente para el mejoramiento genético de los animales.<sup>4</sup> En el caso de los conejos, además es una herramienta que permite una mejor organización en el trabajo reproductivo.<sup>7</sup>

El uso de esta técnica en cunicultura se desarrolla a partir de los años ochenta en Europa en donde la productividad va encaminada a la extensión de la mejora genética y la producción intensiva. Presenta varias ventajas como el control de la calidad del semen, la disminución de enfermedades transmitidas por el coito, una mejor utilización de los sementales, la adquisición de dosis de semen de animales valiosos por parte de los cunicultores, así como la realización de investigación en el área productiva.<sup>7, 8, 9</sup>

En países como México, el desarrollo de esta técnica ha sido escaso, en gran parte debido a la falta de machos que garanticen una mejora genética, a las limitaciones que presenta la conservación del semen, las dificultades para determinar la receptividad de las hembras al momento de ser inseminadas, así como a la inducción de la ovulación por medio de hormonas.<sup>7, 8, 9, 10</sup>

En conejas, la IA tiene como una de las limitantes más importantes el empleo de hormonas para inducir la ovulación, ya que el costo por dosis utilizada por animal es elevado, la respuesta que origina es variable dependiendo de la dosis utilizada y por la creciente tendencia mundial a evitar el uso de hormonas en animales.

Actualmente se han realizado algunos estudios respecto a la inducción de la ovulación en conejas, en diferentes países y por lo tanto bajo distintas condiciones ambientales, a continuación se mencionan algunos de ellos con la finalidad de

comparar los resultados obtenidos por distintos autores con los adquiridos en el presente experimento.

En un estudio realizado por Khalifa *et al.* (2000), quienes evaluaron la inducción de la ovulación en inseminación artificial empleando tres inductores de la ovulación (hCG, GnRH y macho vasectomizado) utilizando conejas California y NZB. La inducción se estudió a cuatro diferentes intervalos de tiempo (-5 y 0 horas antes de la inseminación y +5 y +10 horas después de la inseminación) utilizando una dosis de 5 millones de espermatozoides móviles de semen fresco. Como control se utilizó monta natural en 30 hembras NZB y 35 hembras California. Los resultados obtenidos indicaron que no existió diferencia ( $P>0.05$ ) entre reproductores para las variables índice de concepción (IC), tamaño de la camada (TC) y peso de la camada (PC), también encontraron que el empleo del macho vasectomizado (MV) obtuvo una mayor respuesta como inductor de la ovulación.<sup>11</sup>

En otra investigación realizada por Khalifa (1994), donde investigó el efecto de la frecuencia de apareamientos (0, 1 o 2 apareamientos con machos vasectomizados) y con machos fértiles (MF) (1 o 2 apareamientos) en reproductoras NZB y California sobre el IC, TC y PC, donde dichas variables no fueron afectadas significativamente ( $P>0.05$ ) por el empleo de MV y MF o por las reproductoras. Por otro lado, establecieron la posibilidad de usar macho vasectomizado como inductor de la ovulación en conejas NZB y California inseminadas artificialmente y con monta natural (MN).

Los resultados obtenidos indicaron que el IC, peso total de la camada al destete y peso de los gazapos al nacimiento no mostraron diferencia ( $P>0.05$ ) entre razas. Sin embargo, el porcentaje de mortalidad de gazapos al destete fue mayor

( $P < 0.05$ ) para el grupo apareado naturalmente, el peso promedio del gazapo al destete del grupo de IA tuvo mayor peso ( $P < 0.01$ ) que el grupo apareado naturalmente, no así para el TC y PC fueron significativamente ( $P < 0.01$ ) mayores en el tratamiento con concepción natural respecto al tratamiento con inseminación artificial.<sup>12</sup>

En otro estudio, Nieto (1983), evaluó la comparación entre MN e IA y su efecto en los parámetros reproductivos en conejas NZB, utilizando tres métodos inductores de la ovulación (GnRH, MV y estimulación eléctrica (EE) y en los resultados obtenidos no se encontraron diferencias ( $P > 0.05$ ) en el porcentaje de fertilidad entre MN y GnRH. Sin embargo, el porcentaje de fertilidad entre la EE y MV se observaron diferencias ( $P < 0.01$ ). En relación al número total de crías, los datos obtenidos indicaron diferencia ( $P < 0.01$ ) entre GnRH y EE, con mejores resultados con la aplicación de GnRH respecto a la EE.<sup>13</sup>

Otros autores (Quintanella *et al*, 2007) estudiaron la inducción de la ovulación en conejas NZB sometidas a IA, donde aplicaron un análogo de GnRH ([des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethylamide) a la dosis de semen formando tres grupos, a un grupo de conejas se les aplicó 25 microgramos por coneja y otro donde se incluyó 30 microgramos de análogo de GnRH por coneja y un grupo control al cual se le aplicó 20 microgramos de gonadorelina por coneja vía intramuscular para inducir la ovulación. Los resultados arrojados de este experimento para las variables porcentaje de fertilidad, prolificidad y mortalidad al nacimiento no encontraron diferencia ( $P > 0.05$ ) entre los tres tratamientos.<sup>14</sup>

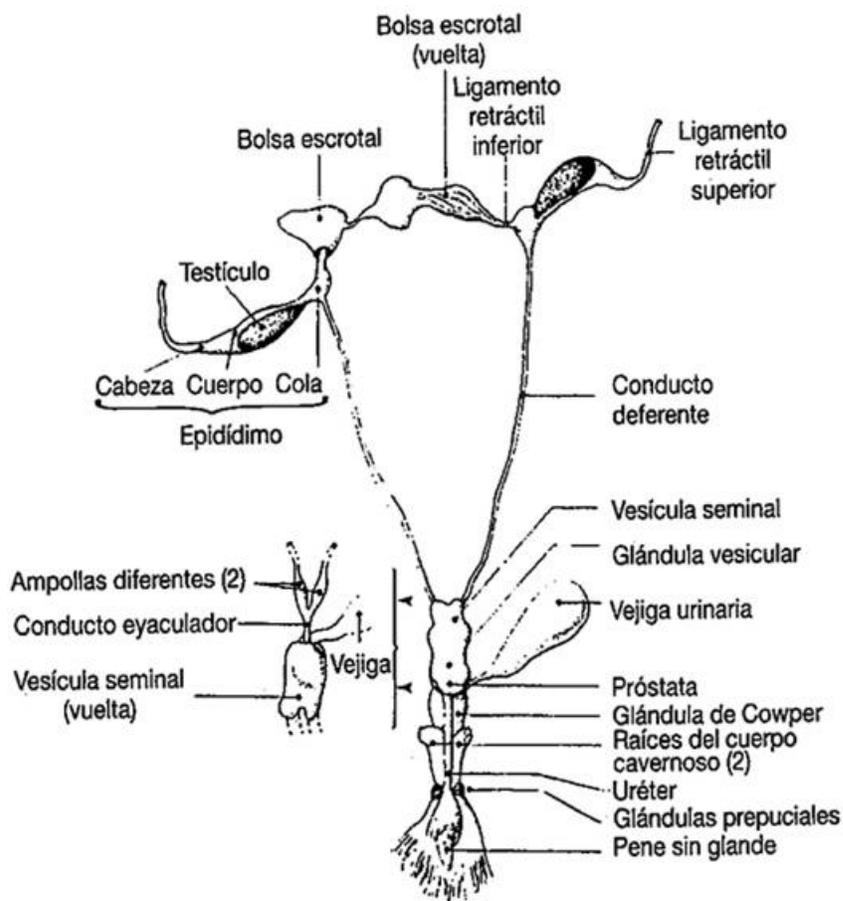
Ceballos (1981), realizó un estudio donde evaluaron dos tratamientos: en el primero utilizaron 10 conejas NZB nulíparas las cuales fueron inseminadas al

segundo o tercer día postparto empleando GnRH como inductor de la ovulación y en el segundo grupo se emplearon 10 conejas NZB de segundo parto con monta natural en el segundo o tercer día postparto. Los resultados de porcentaje de fertilidad fueron mejores ( $P < 0.05$ ) en las hembras de segundo parto que las hembras nulíparas. Por otro lado, con la IA se obtuvo un mayor porcentaje ( $P < 0.05$ ) de fertilidad respecto a la monta natural.<sup>15</sup>

## **ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MACHO**

El aparato reproductor masculino tiene tres funciones principales: la producción de hormonas sexuales, producción de espermatozoides y deposición de los mismos en el tracto genital de la hembra, estos procesos implican tanto al sistema endócrino (hipotálamo e hipófisis) como al genital.<sup>8, 16</sup>

El aparato genital del macho está conformado por: dos testículos, red testicular o *rete testis*, conductos eferentes, epidídimo, conductos deferentes, uretra, glándulas accesorias (vesícula seminal, glándula vesicular, próstata, glándulas bulbouretrales ó de Cowper) y pene. (Figura 1).<sup>8, 16, 17, 18</sup>



**Figura 1.** Esquema del aparato genital del macho. Tomado de Rosell JM. 2000.<sup>19</sup>

## TESTÍCULOS

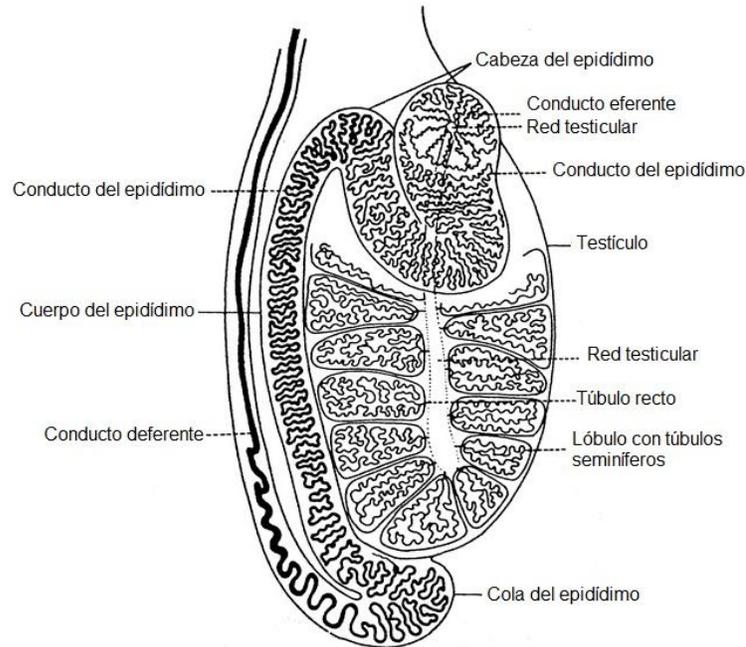
Son de forma ovoide alargada y están suspendidos dentro del escroto por un cordón espermático y el músculo cremaster externo. Los testículos se encuentran situados anteriormente al pene a ambos lados de la línea media inguinal y conservan la comunicación con la cavidad abdominal por lo cual pueden ser retraídos hacia la misma por efecto del miedo o cuando el animal lucha con otros machos o incluso con una hembra. Los testículos se desarrollan con lentitud, a partir de las 5 semanas de edad experimentan un crecimiento extremadamente

rápido y descienden hacia el escroto alrededor de los dos meses de edad.<sup>8, 16, 18, 19, 20, 22</sup>

El escroto es un saco de piel con una capa subcutánea de tejido muscular fibroelástico llamado túnica de dartos. En los mamíferos, la espermatogénesis depende de la temperatura, la cual debe ser inferior a la corporal, la localización extra-abdominal de los testículos y la disposición vascular de la arteria testicular rodeada por el plexo de venas testiculares (plexo pampiniforme), proporciona un mecanismo de intercambio de calor para la termorregulación. La contracción y relajación de la túnica de dartos y del músculo cremaster se producen por los cambios de la temperatura ambiental y en respuesta a determinados impulsos táctiles.<sup>8, 16, 18, 19, 22</sup>

El parénquima del testículo está formado principalmente por túbulos seminíferos y se encuentra dividido en lóbulos por tejido conectivo. Los túbulos seminíferos son altamente sinuosos, alcanzando en el conejo una longitud de 70 metros, cada túbulo seminífero termina en un túbulo recto, los cuales se anastomosan para formar una complicada red de canales, la *rete testis*. (Figura 2)<sup>17, 23</sup>

El testículo está constituido por estructuras glandulares de tipo exocrino (túbulos seminíferos, dentro de los cuales se encuentran las células de Sertoli, espermatogonias y primeras porciones intratesticulares de las vías excretoras) y de tipo endocrino (células de Leydig) que producen hormonas esteroideas.<sup>8, 17, 23</sup>



**Figura 2.** Esquema del sistema tubular del testículo y epidídimo. Modificado de Hafez ESE. 2002.9

## CONDUCTOS EFERENTES

Se originan en la *rete testis* y emergen en la cabeza del epidídimo. Su función es transportar a los espermatozoides de la *rete testis* al epidídimo. El número de estos conductos es variable, dependiendo de la especie y pueden juntarse entre sí antes de unirse al epidídimo.<sup>8, 17, 18</sup>

## EPIDÍDIMO

Es un tubo sinuoso que se encuentra adosado a todo lo largo del testículo, desde el polo craneal al caudal y está unido a la túnica albugínea por tejido conectivo,

anat6micamente se divide en tres segmentos: cabeza o caput, cuerpo o corpus y cola o cauda.<sup>8, 16, 17, 23</sup>

La cabeza del epid6dimo se sitúa cranealmente con respecto al test6culo, es una estructura aplanada que contiene una cantidad variable de conductos eferentes que se unen al conducto epididimario. Los espermatozoides que llegan a la cabeza del epid6dimo provenientes de la *rete testis* son inm6viles e inviables, necesitan migrar y madurar en el trayecto de la cabeza y cuerpo del epid6dimo para lograr la motilidad y capacidad para fecundar. La cola es el lugar de almacenamiento para los espermatozoides maduros. Las principales funciones del epid6dimo son el transporte, maduraci6n y almacenamiento de los espermatozoides.<sup>8, 9, 16, 18, 23, 24</sup>

## **CONDUCTOS DEFERENTES**

Junto con vasos sangu6neos, linfáticos y nervios forman el cord6n espermático que atraviesa los anillos inguinales y llegan al abdomen, conectando la cola del epid6dimo con la porci6n p6lvica de la uretra, los conductos deferentes se dilatan en la porci6n terminal justo antes de unirse a la uretra para formar las ampollas deferentes, las cuales tienen glándulas tubulares ramificadas. La funci6n de los conductos deferentes es impulsar a los espermatozoides maduros desde el epid6dimo hasta la uretra p6lvica, para que se mezclen con los l6quidos seminales y constituir el semen, tambi6n tienen funciones de absorci6n y secreci6n.<sup>8, 17, 18</sup>

## **URETRA**

La uretra es un conducto único que se extiende desde la unión con el ámpula hasta la porción terminal del pene comunicando la vejiga y el conducto deferente con el exterior. Posee una parte situada sobre la sínfisis púbica donde desembocan los conductos deferentes y las glándulas accesorias, y otra parte alojada dentro del pene.<sup>8, 18</sup>

La uretra también aloja el colículo seminal que es un abultamiento de la uretra pélvica, ubicado detrás del orificio uretral. Presenta orificios en forma de rendija y cada uno recibe dos conductos, uno del conducto deferente y otro del conducto excretor de la vesícula seminal. Aquí se mezclan los espermatozoides y los líquidos secretados por las glándulas accesorias, para juntos formar el semen. El colículo seminal se hincha durante la excitación sexual y en la eyaculación, cierra la uretra y evitando de esta manera que la orina se mezcle con el semen. La función de la uretra es actuar como vía urinaria y espermática.<sup>8, 18</sup>

## **PENE**

El pene es un órgano que tiene dos funciones, es capaz de modificar su posición y tamaño para permitir su introducción en el órgano copulador femenino para la deposición del semen y actúa como conducto excretor para la orina. Es un órgano cilíndrico de 40 a 50 mm de longitud que reduce su diámetro hacia su extremidad, se extiende desde la sínfisis isquiática hasta la región umbilical, en el conejo, el pene no posee glande. Se encuentra rodeado por una piel fina y desplazable, que en el extremo anterior forma un repliegue llamado prepucio, que dispone de

glándulas sebáceas. La cara interna del prepucio es una mucosa que también recubre el extremo del pene. Durante la fase de reposo sexual el pene se oculta en el prepucio dirigido caudalmente y situado ventralmente con respecto al ano, en cuya abertura se localizan dos parejas de glándulas inguinales, sudoríparas y sebáceas, productoras de esmegma, necesaria para lubricar y proteger la superficie del pene. Durante la cópula el pene erecto se dirige hacia adelante.<sup>8, 18, 23, 24</sup>

El cuerpo del pene está rodeado por una gruesa capa muscular fibrosa (túnica albugínea) que encierra numerosos espacios cavernosos (cuerpo cavernoso) así como al cuerpo esponjoso, que rodea la uretra. Estructuralmente se distinguen los cuerpos eréctiles y las masas musculares. Los cuerpos eréctiles son los cuerpos cavernosos, que ocupan una posición dorsal, dentro del parénquima hay una compleja red de senos recubiertos de células endoteliales, capilares sanguíneos y terminales nerviosas. Los capilares tienen una luz irregular, dilatada o aplanada, según se encuentren llenos de sangre o no. Los vasos sanguíneos que irrigan los cuerpos cavernosos, poseen válvulas constituidas por músculo liso que regulan su apertura o cierre para permitir o bloquear el paso de la sangre. En la erección se relajan los dispositivos de bloqueo de las células y se activan los de las venas, lo cual permite que se llenen de sangre los cuerpos cavernosos.<sup>8, 9, 17, 23</sup>

El pene presenta tres músculos principales. Los isquiocavernosos, que contribuyen a mantener el pene elevado durante la erección. Los bulbocavernosos, que contribuyen a la contracción del pene para la expulsión del contenido uretral y los retractores del pene.<sup>8, 18</sup>

La erección incluye dos procesos sinérgicos, uno es la dilatación de las arterias helicoidales y contracción de las vénulas y el otro es la compresión de la vena dorsal en el arco isquiático por el músculo isquiocavernoso. El semen es impulsado a través de la uretra mediante contracciones del músculo bulboesponjoso, seguido por una oleada de contracciones de la uretra provocada por la sangre encerrada en el cuerpo cavernoso.<sup>18</sup>

El pene del conejo se clasifica como fibroelástico, debido a su estructura que presenta cuerpos cavernosos menos desarrollados ocasionando que durante la erección tanto el diámetro como su longitud varíen poco con respecto a su estado en reposo.

## **GLÁNDULAS ACCESORIAS**

### **VESÍCULA SEMINAL**

Se encuentra situada dorsalmente con respecto a la ampolla del conducto deferente. Es una glándula impar, en el conejo es firme, con una luz estrecha y bilobulada en su extremo anterior, se fusiona en su parte caudal con la ampolla de los conductos deferentes para formar un canal eyaculador impar que se abre en el colector seminal.<sup>8, 16, 18</sup>

### **GLÁNDULA VESICULAR**

Es una glándula impar, situada contra la cara dorsal de la vesícula seminal, presenta un color gris oscuro y vierte su secreción en el colector seminal, a través de dos canales excretores laterales. Su función es secretar compuestos

energéticos y amortiguadores para proteger del pH de la uretra a los espermatozoides.<sup>8, 18</sup>

## **PRÓSTATA**

Está constituida por dos componentes: una parte externa y lobulada llamada cuerpo, es de forma semiesférica y se encuentra localizada debajo de la glándula vesicular y sobre la cara dorsal de la uretra, posee 4 a 6 canales excretores que se abren en la parte del colector seminal y una parte interna o diseminada, cuyos acinis glandulares permanecen dentro de la lámina propia distribuida alrededor y a todo lo largo de la uretra pélvica, debajo del músculo uretral. Se distinguen también glándulas paraprostáticas, situadas sobre la pared lateral de la ampolla deferente, que llegan al colector seminal por conductos de 3 a 6 mm de longitud. Su secreción es alcalina y le da al semen su olor característico, además participa en la limpieza de la uretra antes de la eyaculación y contribuye a dar mayor volumen al semen.<sup>8, 16, 24</sup>

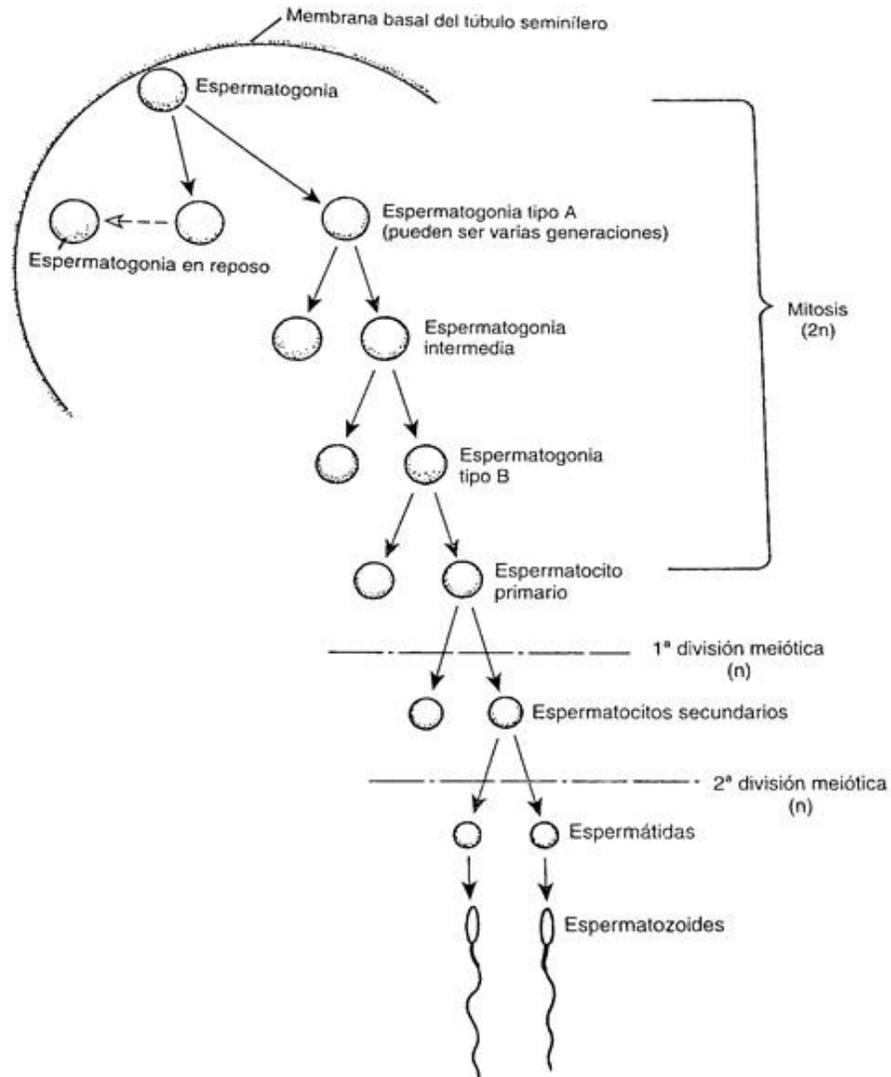
## **GLÁNDULAS BULBOURETRALES O DE COWPER**

Son pequeños órganos pares situados sobre la uretra, en la que vierten su contenido. La secreción de estas glándulas no forma parte del eyaculado, ya que su función básica es limpiar y lubricar la uretra para el paso del eyaculado.<sup>8, 17, 18, 23</sup>

## **ESPERMATOGÉNESIS Y MADURACIÓN ESPERMÁTICA**

La espermatogénesis (Figura 3) es un proceso largo, complejo y dirigido en el que las células madre diploides se dividen por mitosis para mantener su número y producir la progenie que sufre progresivas divisiones meióticas hasta diferenciarse en espermatidas haploides, que conduce a la formación de espermatozoides. La espermatogénesis se divide en tres procesos principales: espermatocitogénesis (división mitótica de las espermatogonias y diferenciación a espermatocitos primarios), fase meiótica (dos divisiones de los espermatocitos que dan origen a las espermatidas) y espermiogénesis (cambios morfológicos de las espermatidas que dan origen a los espermatozoides). Cada una de estas divisiones abarca aproximadamente un tercio de la duración total de la espermatogénesis.<sup>16, 17, 23, 25</sup>

Los espermatozoides completamente formados, que durante el proceso de diferenciación estuvieron contenidos y asociados a las células de Sertoli, son liberados de éstas hacia la luz del túbulo seminífero mediante el proceso llamado espermiación. En la mayoría de los mamíferos los espermatozoides liberados a la luz del túbulo son inmaduros y necesitan del tránsito por el epidídimo para adquirir la madurez funcional.<sup>17</sup>

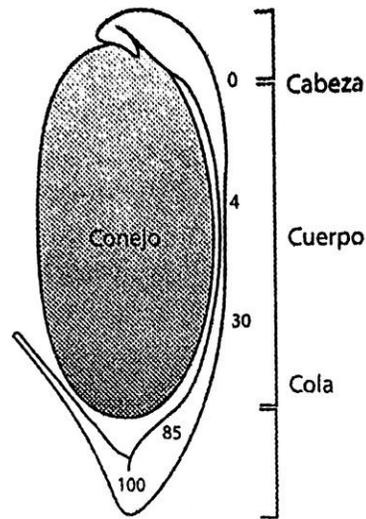


**Figura 3.** Representación esquemática de la espermatogénesis. Tomado de McDonald LE. 1989.25

Durante el tránsito por el epidídimo, los espermatozoides sufren un proceso de maduración (reducción del acrosoma y desaparición de gotas citoplasmáticas). Las secreciones del epidídimo juegan un papel importante en este proceso, en el cual el espermatozoide adquiere motilidad y capacidad de fecundación. El paso por el epidídimo tiene una duración entre 8 y 10 días, con una permanencia de 2 días en la cabeza, 2 en el cuerpo y 5 o 6 en la cola, de manera que en la cola se

encuentran espermatozoides de diferente edad y desarrollo. La maduración epididimaria es imprescindible para que los espermatozoides adquieran capacidad fecundante.<sup>8</sup> (Figura 4).

En un conejo la duración de la espermatogénesis, tiempo necesario para que se forme un espermatozoide a partir de una espermatogonia es de 38 a 41 días.<sup>8</sup>



**Figura 4.** Desarrollo de la capacidad de fertilización de espermatozoides tomado de diferentes regiones del epidídimo. El porcentaje de ovocitos fertilizados por espermatozoides de la parte distal de la cola del epidídimo fue considerado como 100%. Modificado de Alquicira *et al.* 2010.<sup>17</sup>

## MORFOLOGÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES

El espermatozoide es una célula altamente especializada que ha evolucionado para llevar a cabo una única función, la fertilización del óvulo.<sup>25</sup>

A grandes rasgos, el espermatozoide se puede dividir en dos partes: cabeza y cola.<sup>26</sup> (Figura 5).

## **CABEZA**

En general presenta una forma aplanada y consiste ante todo en un núcleo formado por cromatina altamente condensada, ácido desoxirribonucleico (ADN), cromosómicamente es haploide, solo contiene la mitad de los cromosomas que contienen las células somáticas del animal; está recubierto en su parte anterior por el acrosoma.<sup>25, 26</sup>

## **ACROSOMA**

Se compone de una membrana acrosómica interna y externa, ubicada sobre el núcleo, ésta estructura en forma de casquete contiene acrosina, hialuronidasa y otras enzimas hidrolíticas que se encargan de disolver la zona pelúcida del ovocito para permitir la fecundación.<sup>25, 26</sup>

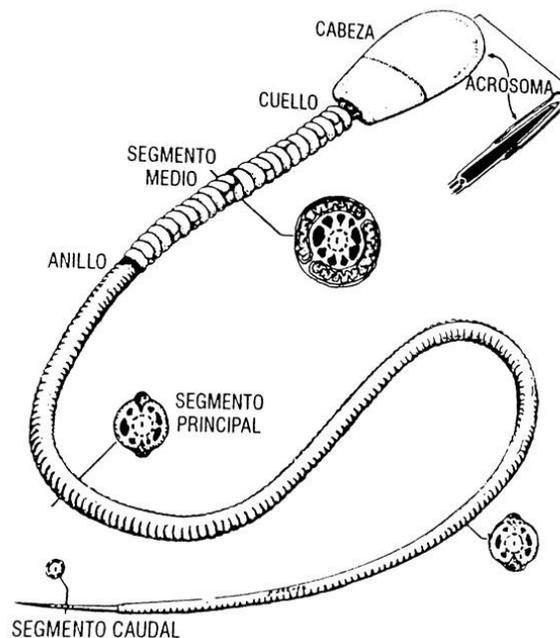
## **COLA**

Está formada por el cuello y los segmentos medio, principal y caudal. El cuello une la pieza media y la cabeza formando una placa basal que embona en una depresión en el extremo posterior del núcleo.<sup>9, 25</sup>

El segmento medio es la región comprendida entre el cuello y el anillo citoplasmático. El centro del segmento medio, junto con toda la longitud de la cola, forman el axonema, el cual está formado por nueve pares de microtúbulos dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales. El axonema y las fibras densas asociadas al segmento medio, se encuentran cubiertos de manera periférica por numerosas mitocondrias. La vaina mitocondrial, dispuesta en un

patrón helicoidal alrededor de las fibras longitudinales de la cola es la fuente de energía necesaria para la motilidad espermática.<sup>9, 25</sup>

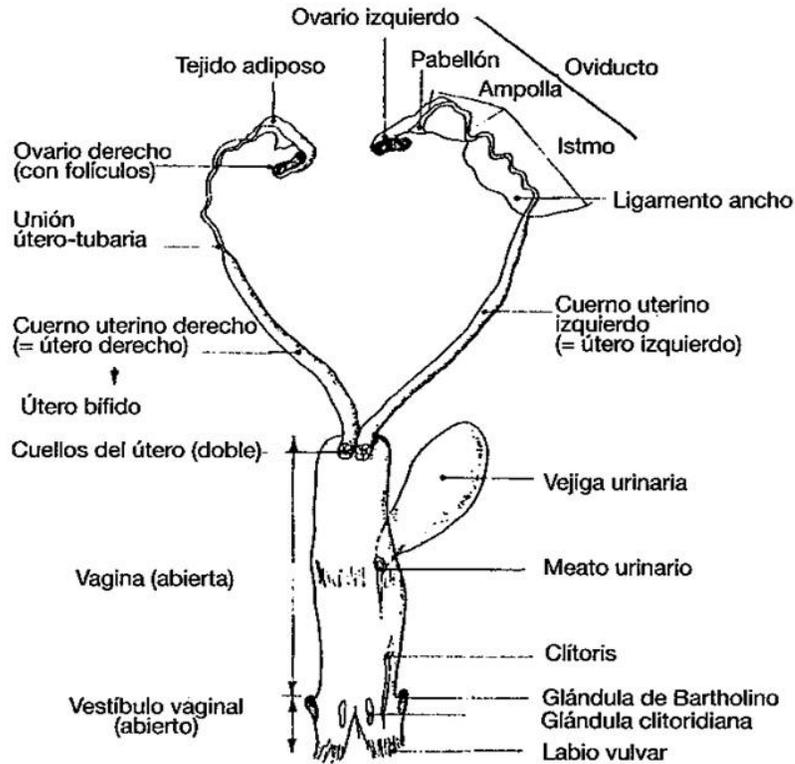
El segmento principal, está formado por el axonema en el centro y sus fibras gruesas asociadas que dan estabilidad a los elementos contráctiles de la cola. El segmento caudal contiene sólo el axonema central cubierto por la membrana plasmática. El axonema es quien da la motilidad al espermatozoide.<sup>9</sup>



**Figura 5.** Morfología del espermatozoide. Tomado de Hafez ESE. 2002.<sup>9</sup>

## **ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA**

El aparato reproductor de la coneja está formado por dos ovarios, dos oviductos, dos cuernos uterinos, dos cérvix, vagina y vulva. (Figura 6).



**Figura 6.** Esquema del aparato genital de la hembra. Tomado de Rosell JM. 2000.<sup>19</sup>

## OVARIOS

Son de forma elíptica y alargada, presentan una superficie sólida, con bordes irregulares, esto debido a la proyección de folículos y cuerpos lúteos, están ubicados en la región sublumbar, caudal a los riñones en situación no siempre simétrica y penden dorsalmente del mesoovario, miden de 1 a 2 cm en su dimensión mayor y poseen un peso entre 0.2 y 1 gramo. Los ovarios desarrollan funciones exócrinas (liberación de óvulos) y endócrinas (esteroidogénesis).<sup>4, 8, 9, 18,</sup>

Los ovarios están rodeados por una bolsa ovárica que deriva del mesosalpinx. Se encuentran inervados por los nervios autónomos del plexo ovárico. El aporte sanguíneo proviene de la arteria ovárica y de una rama de la arteria útero-ovárica. El patrón vascular del ovario cambia con los diferentes estados hormonales, permitiendo que el riego sanguíneo se adapte a las necesidades del órgano.<sup>9, 17</sup>

El ovario, excepto en el punto de inserción del mesoovario, se encuentra totalmente rodeado por el epitelio germinal bajo el cual se ubica una capa de tejido conjuntivo denominado túnica albugínea; está dividido en dos porciones, corteza y médula. La corteza es el tejido predominante del ovario, es una zona parenquimatosa que contiene los folículos ováricos. Los folículos corresponden a diferentes estadios de evolución de los folículos primordiales hasta la ruptura del folículo maduro. Cada uno contiene un ovocito y corresponde al sitio de oogénesis y de producción de hormonas esteroideas. La médula está formada por tejido conjuntivo que contiene fibras elásticas, vasos sanguíneos, linfáticos, nervios y fibras de músculo liso y presenta continuidad con el mesoovario a la altura del hilio.<sup>8, 9, 17, 18, 23, 27</sup>

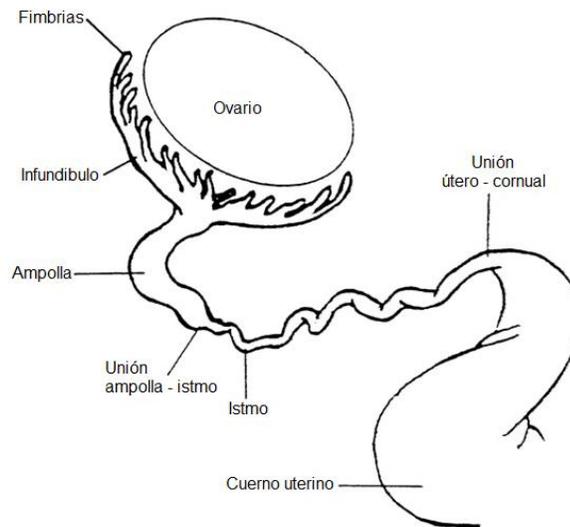
## **OVIDUCTOS**

Debajo de cada ovario se encuentran los oviductos, que son órganos tubulares, estrechos y sinuosos que se extienden de los ovarios al útero y están suspendidos por el mesosalpinx. El oviducto (Figura 7), se divide en tres segmentos funcionales: 1) Infundíbulo. Es la parte más craneal del oviducto y consiste en una abertura abdominal cercana al ovario que tiene forma de embudo. Su función es

captar a los óvulos. En su borde libre el infundíbulo posee fimbrias, se encuentran en la unión del ovario y el oviducto, son prolongaciones de la mucosa del oviducto que se extienden plegadas hacia el ovario en forma de olán, se encuentran libres excepto en un punto del polo superior del ovario, lo que asegura una estrecha aproximación entre las fimbrias y la superficie ovárica para que mediante un mecanismo de contracción por parte de las fimbrias hacia el ovario los óvulos sean recibidos en el infundíbulo.<sup>4, 9, 17</sup>

2) Ampolla o ámpula: Ocupa aproximadamente la mitad de la longitud del oviducto. En la unión ámpula-istmo es donde se lleva a cabo la fecundación.<sup>9, 17</sup>

3) Istmo: Es la parte del oviducto que se conecta con el útero.<sup>17</sup>



**Figura 7.** El oviducto. Modificado de García SA. 1995.<sup>29</sup>

## ÚTERO

El tracto genital de la coneja posee características anatómicas y fisiológicas diferentes al resto de las especies zootécnicas, entre ellas destaca el hecho de que su útero ha sufrido una modificación que consiste en la pérdida del cuerpo

uterino, que independientemente de que en su parte posterior están unidos en un solo cuerpo, en realidad hay dos úteros independientes que poseen cada uno su propio cérvix y desembocan de manera individual en la vagina. Cada uno de los úteros mide aproximadamente de 5 a 7 cm.<sup>4, 8, 19, 20, 27</sup>

El útero está formado por tres capas, mucosa interna (endometrio), muscular intermedia (miometrio) y una serosa (perimetrio). El endometrio es glandular, produce hormonas como las prostaglandinas y la progesterona; su desarrollo es cíclico en respuesta al incremento de los niveles de estrógeno y progesterona durante el estro y la gestación. El miometrio es responsable de las contracciones uterinas durante el estro, la cópula y el parto. Tanto el endometrio como el miometrio experimentan variaciones en el riego sanguíneo, dependiendo de la etapa del ciclo estral o la gestación.<sup>8, 24, 25, 28, 30</sup>

La función principal del útero es albergar la gestación manteniendo el ambiente interno adecuado para el desarrollo del embrión antes y después de la implantación en los cuernos uterinos mediante el pH y secreción de nutrientes, también funciona como canal de parto, a partir de contracciones reguladas por estrógenos y oxitocina expulsa al feto; es la vía de paso para los espermatozoides hacia el sitio de fecundación en el oviducto y regula el funcionamiento del cuerpo lúteo.<sup>9, 17, 29</sup>

## **CÉRVIX**

Es una estructura parecida a un esfínter, que se proyecta caudalmente hacia el interior de la vagina. Su lumen se denomina canal cervical el cual es tortuoso y

tiene repliegues que se ajustan entre sí. Posee una pared muscular gruesa que le permite relajarse o contraerse durante el estro para permitir el paso del semen hacia el oviducto para el proceso de fertilización o la expulsión de los fetos durante el parto, durante la gestación el cérvix permanece cerrado. El cérvix es un órgano que actúa como barrera fisiológica separando el útero de la vagina, protegiendo al primero del contacto externo para evitar la entrada de microorganismos. En el caso de la coneja, esta posee dos cérvix anatómicamente diferenciados e independientes uno del otro lo cual produce que los embriones antes de implantarse no puedan migrar de un cuerno uterino a otro como ocurre en otras especies animales. <sup>8, 9, 17, 18, 23, 25, 29, 30, 31</sup>

## **VAGINA**

Es la porción terminal del aparato genital femenino, es un órgano cilíndrico, que mide entre 7 y 18 cm, conformada por unas paredes finas que se pueden distender a lo largo y ancho, debido a que tiene una capa muscular muy parecida a la del útero, dicha capa es rica en vasos sanguíneos, paquetes nerviosos y tejido conectivo laxo y denso. También posee una mucosa carente de glándulas, con pliegues longitudinales. La vagina está constituida por dos partes: la craneal, que inicia desde el cérvix hasta el meato urinario y la parte caudal (vestíbulo) que va desde el orificio uretral hasta la vulva. <sup>8, 9, 17, 19, 23, 24, 25, 28</sup>

Es el órgano de cópula, donde se deposita el semen, ya sea por métodos naturales (monta natural) o instrumentales (inseminación artificial), es el lugar donde se inicia la capacitación espermática. Al igual que el útero, la vagina actúa

como canal de parto y permite el paso de los espermatozoides en su tránsito hacia el oviducto.<sup>17, 25, 30</sup>

## **VULVA**

La vulva es la porción externa de los genitales de la hembra en el cual desemboca el vestíbulo de la vagina, está formada por dos gruesos labios, los cuales se unen en las comisuras dorsal, que presenta una forma redondeada y ventral, donde se encuentra ubicado el clítoris, el cual es un órgano sensible homólogo del pene. Los labios responden a los niveles cíclicos de estrógenos y progesterona, lo cual es de suma importancia en la coneja ya que la coloración que presentan es un indicativo del estado de receptividad o celo de la hembra y sugiere el momento indicado para la monta o inseminación artificial.<sup>8, 9, 17, 23, 25, 30</sup>

La mucosa de la porción final de la vulva contiene glándulas sebáceas y glándulas de Bartholin que secretan un moco lubricante para favorecer la cópula.<sup>23, 25</sup>

## **OVOGÉNESIS**

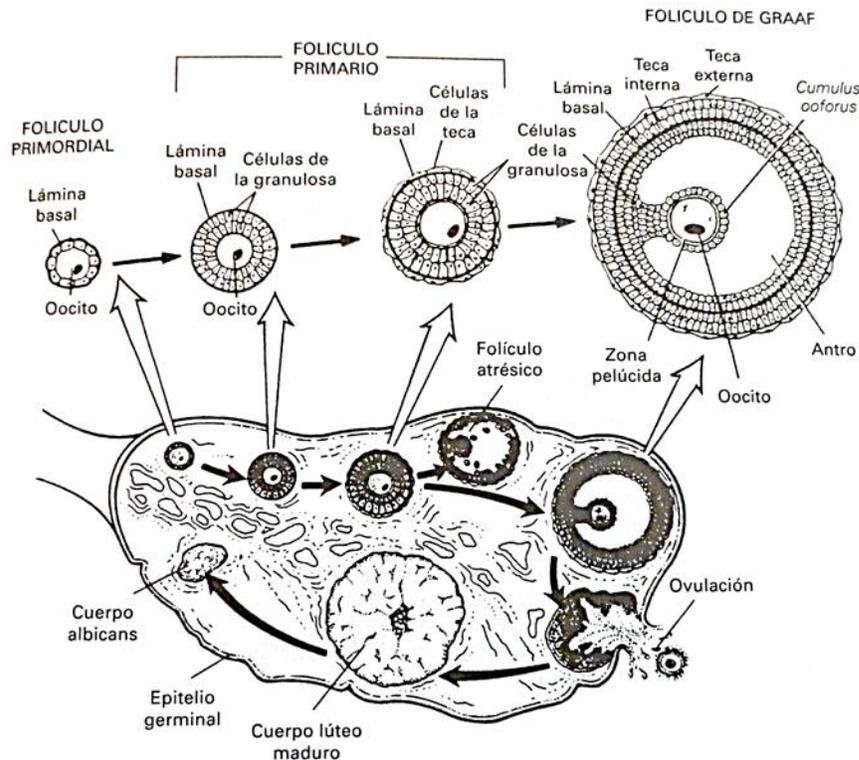
La ovogénesis es el proceso de formación, crecimiento y maduración de los gametos femeninos. La etapa de formación se realiza durante la vida fetal. En la etapa de proliferación las células primordiales germinales se diferencian a través de innumerables divisiones mitóticas hasta oogonias, las primeras divisiones ocurren en la vida fetal a partir del día 21, se multiplican por mitosis hasta que la última generación pasa a la profase de la primera división meiótica, punto en el cual se desarrollan en oocitos primarios, antes o poco después del nacimiento. En

el caso de la coneja las oogonias son transformadas en oocitos primarios hacia el final de la segunda semana posnatal. En el estadio de oocito primario da comienzo la primera división meiótica, después de estos eventos las células entran en diacinesis o reposo, esta fase se alcanza hasta la tercera semana posnatal. Durante la etapa de reposo las células permanecen inactivas por días o años dependiendo de la especie animal, en esta etapa los oocitos primarios se encuentran rodeados de una capa de células (foliculares) formando los folículos primordiales. El número de oocitos formados durante el desarrollo fetal o neonatal constituye el número máximo disponible a lo largo de la vida reproductiva, ya que la mayor parte de los folículos primordiales están destinados a sufrir una degeneración espontánea, este proceso es conocido como atresia folicular. Este proceso conduce a una disminución gradual de la reserva de oocitos iniciándose en el nacimiento y continuando hasta la senescencia sexual.<sup>8, 9, 16, 17, 23, 25, 27</sup>

La meiosis iniciada en el oocito primario, no se reanuda hasta que el folículo alcance su desarrollo final antes de ser ovulado. A partir de la pubertad los folículos primordiales experimentan un crecimiento, presentándose en el ovario diversos grados de maduración folicular (Figura 8). Los folículos primarios constan de un ovocito engrosado rodeado de una capa de células cubicas. El folículo secundario es un ovocito que alcanza su máximo volumen y posee de 3 a 4 capas de células que forman la granulosa. El folículo terciario presenta 6 a 9 capas de células y pequeños espacios entre las células de la granulosa que están llenos de líquido folicular formando una cavidad o antro folicular. El antro se agranda por acumulación de líquido, la granulosa forma una delgada capa llamada "cumulus oophorus", dando lugar al folículo preovulatorio o folículo de Graaf, las células que

rodean al folículo están diferenciadas en dos capas, la teca interna y la teca externa.<sup>8, 16</sup>

Los folículos que llegan a la madurez folicular entran al proceso de ovulación, el resto sufrirá atresia. Después del pico de LH durante el ciclo de la hembra hay una vasoconstricción de la teca interna formándose un estigma, por el cual al ocurrir la ovulación, se presenta una disolución de la pared folicular y la liberación del óvulo, formándose en el sitio un cuerpo hemorrágico, el resto del folículo se transforma en un cuerpo lúteo (CL) por la diferenciación de las células de la granulosa y teca interna en células luteínicas, que son las responsables de la producción de progesterona. Al momento de su involución, el CL adopta la forma de un cuerpo blanco (cuerpo albicans).<sup>8, 23</sup>



**Figura 8.** Representación esquemática de la estructura del ovario y las diferentes fases en el desarrollo del folículo, cuerpo lúteo y cuerpo albicans. Tomado de García SA. 1995.29

## **CICLO ESTRAL**

A diferencia de la mayoría de los mamíferos domésticos, la coneja no presenta un ciclo estral regular y definido, es considerada como una hembra de ciclo relativamente permanente y de ovulación inducida, ya que ésta solo se lleva a cabo como consecuencia de los estímulos producidos por el acoplamiento con el macho o un estímulo equivalente y su ritmo de receptividad está ligado al desarrollo de las poblaciones foliculares, las cuales producen estrógenos, hormonas responsables del estado de receptividad sexual. El desarrollo de folículos ocurre normalmente en oleadas, con 5 a 10 folículos en cada ovario con un ovocito en su interior cada uno. Los folículos producen estrógenos durante 12 a 14 días. Después de este periodo, si no existe la ovulación, los folículos degeneran, el ovocito es destruido y disminuye la producción de estrógenos y la receptividad sexual. Después de 4 días aproximadamente, inicia una nueva oleada de maduración folicular. Por consiguiente se podría decir que la coneja tiene un ciclo de 16 a 18 días, de los cuales 12 a 14 está receptiva y los 4 restantes no acepta al macho.<sup>3, 8, 19, 20, 22</sup>

## **COMPORTAMIENTO SEXUAL**

Las manifestaciones externas de celo en la coneja son discretas y variables, si la hembra acepta la cubrición se asume que está en estro, una coneja en celo se caracteriza porque adopta una posición en arco (lordosis) con la grupa levantada. Sin embargo, la vulva presenta alteraciones cromáticas que van desde un color blanco pasando por el rosa y rojo hasta un rojo oscuro o violeta, estas

coloraciones indican el estado de receptividad ya que son un signo de la fase estrogénica. La apreciación de una vulva edematizada y de color rojo brillante por la lubricación natural indica que la coneja se encuentra en celo.<sup>8, 19, 20, 22, 24, 30</sup>

La coloración de la vulva y el grado de aceptación ante la cópula está correlacionada con la fertilidad como se muestra en la figura 9.

Color de la vulva	Blanco	Rosa	Rojo	Rojo oscuro
Fertilidad	35%	55%	75%	40%

**Figura 9.** Porcentaje de fertilidad esperado según la coloración de la vulva. Tomado de Ptaszynska M., Molina JJ. 2007.<sup>22</sup>

## **SINCRONIZACIÓN DE LA RECEPTIVIDAD**

Una gran diferencia entre la monta natural y la inseminación artificial es que con la monta natural sólo se cubren las conejas receptivas y con IA se cubren todas las conejas, estén o no receptivas. Es fundamental que en el momento de la IA esté receptivo el mayor número de conejas, para ello se debe cuidar la preparación de las mismas utilizando métodos que permiten estimular la receptividad y sincronización del celo.<sup>32</sup>

La receptividad en la hembra es un indicador simple y rápido del estado del ovario; así que una hembra receptiva presenta un mayor número de folículos desarrollados en el ovario y unos niveles de estrógenos más elevados que una hembra no receptiva. La reproducción no es exclusiva de las hembras receptivas, ya que las conejas pueden ovular en todas las fases sexuales. Un buen control de

la receptividad provoca una reducción del intervalo entre partos y un aumento en los índices productivos, por lo que se utilizan diferentes métodos para su inducción, sobre todo cuando se realiza la IA.<sup>7</sup>

La inducción del celo en la coneja y su sincronización es realizada usualmente a través de la acción sobre los ovarios con el objeto de provocar una oleada de maduración folicular y, con ella, la producción ovárica de estradiol, desencadenando así el comportamiento sexual, para que todas las conejas tengan probabilidades similares de quedar preñadas.<sup>6, 8</sup>

En la coneja la inducción del celo debe estar asociada a la inducción de la ovulación, dado que no se produce una ruptura espontánea de los folículos preovulatorios.<sup>8</sup>

Entre los métodos para inducir el celo existen dos grupos, los hormonales y los no hormonales (bioestimulación), siendo los primeros los más utilizados, mientras que la bioestimulación no se utiliza o queda relegada a un segundo plano empleándose como un refuerzo o complemento de los métodos hormonales.<sup>7, 32</sup>

## **MÉTODOS HORMONALES PARA LA SINCRONIZACIÓN DEL ESTRO**

El uso de sustancias hormonales exógenas para la sincronización del estro o celo se encuentra ampliamente difundido por su eficacia y sencillez, se ha trabajado con una amplia gama de hormonas naturales y análogos sintéticos que inciden en los distintos niveles del sistema endócrino que regula la función reproductiva,

actualmente los grupos hormonales más utilizados son la prostaglandinas (PGF $2\alpha$ ) y las gonadotropinas (PMSG o eCG).<sup>6, 7, 33</sup>

## **GONADOTROPINA DEL SUERO DE LA YEGUA GESTANTE (PMSG) O GONADOTROPINA CORIÓNICA EQUINA (eCG)**

Es la hormona más utilizada para sincronizar la receptividad de las conejas. Su acción desencadena la liberación de FSH por parte de la hipófisis promoviendo el crecimiento folicular a nivel del ovario. La aplicación de esta hormona para la inducción del celo es sencilla y eficaz, sin embargo, presenta inconvenientes como: costo de la hormona, del material para su aplicación y mano de obra especializada, se ha observado que a partir de la tercera o cuarta aplicación una parte de las conejas tratadas no responde al tratamiento debido a la formación de anticuerpos anti-eCG, esta respuesta inmunitaria puede depender del intervalo entre aplicaciones o del animal, cuando se trata de ritmos de cubrición o inseminación en día 4 o día 11 postparto el número de inyecciones repetidas en la vida productiva puede afectar a la fertilidad.<sup>7, 34</sup>

La respuesta inmunitaria a la eCG es aceptada ya que se inyecta una gonadotropina aislada del suero de la yegua gestante, éstas inyecciones estimulan la capacidad del organismo para destruir moléculas o sustancias extrañas, particularmente cuando se aplican de modo repetido.<sup>7, 34</sup>

Las dosis recomendadas de eCG no deben sobrepasar las 20 UI por coneja obteniendo receptividades medias superiores al 90%. Se ha observado que dosis superiores a la recomendada provocan una superovulación afectando

negativamente la prolificidad debido a tasas elevadas de reabsorción embrionaria. El intervalo entre el tratamiento y la cubrición cuando se utiliza la eCG es de 72 horas antes de la monta o inseminación, sin embargo se han observado mejores tasas de aceptación 48 horas después del tratamiento. De igual modo la coloración de vulvas rojas y rosas turgentes aparecen mayoritariamente en torno a las 48 horas, por lo que este intervalo resulta adecuado cuando se sincronizan hembras que van a ser inseminadas en un mismo día.<sup>8, 34, 35</sup>

## **PROSTAGLANDINA F2 $\alpha$**

Su acción es principalmente luteolítica, aplicada a los 28 – 29 días de gestación inducirá el parto 64 horas después, reduciendo el número de nacidos muertos y posibles alteraciones en la conducta maternal. Al producir la luteolisis se libera el bloqueo ejercido por la progesterona sobre el hipotálamo desencadenando la producción de GnRH, iniciando un nuevo ciclo sexual y crecimiento de los folículos en el ovario. Los intervalos tratamiento-cubrición son los mismos que para eCG entre 48 y 72 horas. En cuanto a la dosis, las prostaglandinas sintéticas son más activas que las naturales requiriéndose 200 $\mu$ g vía intramuscular para obtener el efecto deseado, en el caso de las prostaglandinas naturales las dosis efectivas se encuentran entre 1500 y 2000  $\mu$ g vía intramuscular.<sup>7, 34</sup>

## **BIOESTIMULACIÓN**

Ante los inconvenientes de utilizar los métodos hormonales para la inducción del celo y la preocupación por parte del consumidor en relación con los posibles

residuos en la canal, si bien, las hembras reproductoras generalmente no se utilizan para el consumo humano; así como el interés de mantener una imagen “natural” de la carne y la normatividad para el bienestar animal, se han desarrollado técnicas alternativas para modificar el equilibrio endócrino de la hembra y obtener mejoras en la capacidad reproductiva aplicando métodos no hormonales. Estas técnicas se basan en la intervención de los factores ambientales que influyen en el ciclo reproductivo, entre los que se destacan la manipulación de los animales, la interrupción de la lactación mediante cierre del nidal, la aplicación de flushing energético y el control de la iluminación.<sup>7, 36</sup>

### **Manipulación de los animales**

- a) Cambio de jaula. Se trata de cambiar de jaula a las hembras unas horas antes de la inseminación. Con respecto a esta técnica, existen resultados contradictorios en hembras nulíparas obteniendo un incremento de la fertilidad en unos casos y no siendo así en otros. Sin embargo, lo que sí es constante es que en hembras multíparas que son cambiadas de jaula 48 horas antes de la IA provoca, con respecto a un grupo control sin ningún tipo de manejo de control del estro, un incremento tanto de fertilidad como de prolificidad. Este efecto puede producirse por la acción del estrés sobre el balance endócrino de la hembra, cuya influencia parece evidente, sin embargo, se desconoce el mecanismo de acción. Es lógico que se produzca un efecto mayor en hembras multíparas que en nulíparas, ya que

estas no están acostumbradas a que se les cambie de jaula ni a que se les separe de las crías.<sup>7</sup>

- b) Agrupamiento de hembras. Se trata de reunir a varias hembras en una misma jaula unos minutos antes de la IA. Algunos estudios citados por González<sup>12</sup> concluyen que el agrupamiento de hembras 15 minutos antes de la inseminación produce un enrojecimiento de la vulva y un aumento de fertilidad de las hembras sin que se vea afectado el peso de los gazapos ni el tamaño de la camada. Es importante señalar que este efecto se observa en hembras multíparas y nulíparas (lactantes y no lactantes) pero no así en hembras primíparas.<sup>7</sup>

No está muy claro que con este tipo de técnicas se produzca un incremento de los parámetros productivos, como se demuestra en los resultados obtenidos por diferentes autores. Este tipo de técnicas tienen la desventaja de ser muy laboriosas para su aplicación en los sistemas de producción actuales (por tiempo, mano de obra y sanidad) por lo que no se consideran la mejor alternativa.<sup>7</sup>

### **Control de la lactancia**

Este método consiste en la separación de la madre y los gazapos para reducir el efecto inhibitorio de la lactación sobre la receptividad. Esta técnica se lleva a cabo desde el segundo día de nacimiento de los gazapos y hasta el día 9 postparto evitando que la hembra ingrese al nido ya sea cerrándolo o sacando el mismo de la jaula. Sólo se permite el acceso diario de la hembra al nidal por 10 a 30 minutos, de preferencia por la mañana. El día 10 posparto no se permite a la

hembra amamantar a la camada y el día 11 después de amamantar a las crías se presenta al macho para la monta o se realiza la IA. Este manejo consigue mejorar la receptividad y la fertilidad asegurándose la viabilidad de las crías disminuyéndose la mortalidad en la lactancia, siempre y cuando los nidales se conserven protegidos con suficiente cama y sin exceso de humedad.<sup>33, 35</sup>

Existen tres teorías con respecto al por qué evitar la lactación produce un aumento en la fertilidad.

1) Esta teoría menciona que la separación temporal entre la madre y la camada produce una interrupción de la lactación que conlleva a una reducción en la secreción de prolactina, lo cual va a provocar un aumento en la secreción de gonadotropinas, dando lugar a un mayor crecimiento folicular, debido al antagonismo entre la prolactina y estas hormonas. También se sugiere que el amamantamiento de los gazapos produce una liberación de  $\beta$ -endorfinas en la madre, que provocan una supresión en la secreción de gonadotropinas, por lo que una interrupción de la lactación también provocaría un efecto positivo sobre estas hormonas.<sup>7</sup>

2) Otra teoría menciona el efecto provocado por los niveles de oxitocina alcanzados en el amamantamiento. Esta hormona genera contracciones en las células mioepiteliales que rodean a los alvéolos (para la eyección de la leche en la lactación), así como en la musculatura lisa del aparato reproductor que favorece el transporte de los espermatozoides hacia el oviducto. Debido a que los niveles máximos de oxitocina se encuentran 3 – 4 minutos después de comenzar la lactación, resulta conveniente realizar la IA en un breve espacio de tiempo después del amamantamiento.<sup>7</sup>

3) La tercera teoría se refiere al estrés provocado a la hembra que al igual que el cambio de jaula, tiene influencia positiva sobre el balance hormonal.<sup>7</sup>

### **Flushing energético**

La alimentación juega un papel fundamental para la expresión de la actividad reproductiva, ésta debe ser equilibrada para evitar que se produzca un excesivo engrasamiento, el cual interfiere en la aceptación de la monta, ovulación y captación de los óvulos en el oviducto. Las alteraciones reproductivas relacionadas con la alimentación son principalmente descenso de la actividad sexual, reducción de la fertilidad, aumento de la mortalidad embrionaria y abandonos de camada.<sup>8</sup>

En las conejas se utilizan técnicas de flushing o incrementos en la calidad del alimento, o de su cantidad después de un periodo de racionamiento justo antes de la monta o IA. La administración de complejos vitamínicos A-D-E tiene efectos benéficos sobre la actividad sexual y la fertilidad. De la misma manera actúa el alimento distribuido sin restricción después de un corto periodo de racionamiento.<sup>7,</sup>

8

Existen variaciones en su aplicación dependiendo del estado fisiológico de las hembras. En el caso de las conejas de reposición, a partir de las 12 semanas de vida, su alimentación debe estar racionada, ofreciendo 140 – 150 g de alimento por día o bien una dieta *ad libitum* con un alto contenido fibroso. Las conejas no lactantes también deben mantenerse con una alimentación energéticamente restringida. En estos casos, la aplicación de un flushing energético se realiza

mediante la restricción alimenticia y ofreciendo alimento a libre acceso durante una semana antes de la IA, o en el caso de que se administre una dieta alta en fibra se sustituye el mismo por un alimento de mayor contenido energético por una semana antes de la monta o inseminación. Por otro lado, las conejas que se encuentran lactando se ven sometidas a un gran desgaste energético, por lo que no es conveniente aplicar la restricción alimenticia.<sup>7</sup>

Para lograr un incremento energético en la dieta es necesario aplicar sustancias como el propilenglicol, en cunicultura se han realizado pruebas administrando ésta sustancia al 2% en el agua de bebida como suplemento alimenticio para la inducción del estro durante 4 días antes de la inseminación, registrando porcentajes de fertilidad similares a los obtenidos con un tratamiento hormonal de 20 UI de eCG. Sin embargo, su utilización es controvertida debido a la toxicidad de esta sustancia y a que se requieren instalaciones que permitan la administración del producto únicamente a las reproductoras en las cuales se inducirá el estro.<sup>7</sup>

### **Control de la iluminación**

En las conejas los incrementos positivos de la relación Horas Luz/ Horas Oscuridad (HL/HO) favorecen la aparición del celo, debido a que el descenso de la melatonina incrementa los niveles de GnRH desencadenando a nivel hipofisario una mayor liberación de gonadotropinas, provocando el crecimiento y maduración folicular.<sup>8, 35, 37</sup>

La regulación de la iluminación eléctrica puede incrementar el porcentaje de conejas que aceptan al macho, sin embargo, no se ha demostrado una mejora

significativa en la fertilidad y tamaño de la camada.<sup>8</sup> El programa de iluminación constante de 8 horas durante todo el año, interrumpido por un incremento a 16 horas en la semana previa a la inseminación presenta gran efectividad en hembras manejadas en banda única, sin embargo, los resultados no son tan favorables en otros tipos de manejo.<sup>37</sup>

## **OVULACIÓN**

En la coneja la ovulación se produce por una respuesta neuro-hormonal, que consta de dos vías: la vía aferente, nerviosa, que transmite los estímulos provocados por el coito al sistema nervioso central (SNC) y la vía eferente, hormonal, que envía la señal del SNC al óvulo, produciéndose la ovulación.<sup>3, 19, 38</sup>

El estímulo coital provoca por vía neuronal la descarga de la hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH) dando lugar a un pico preovulatorio de hormona luteinizante (LH) por parte de la hipófisis y en menor proporción de hormona folículo estimulante (FSH). El pico preovulatorio de LH desencadena procesos en los folículos preovulatorios, que conducen a la liberación del ovocito. En parte también contribuyen la progesterona y las prostaglandinas, cuya acción es condicionante para que se produzca la ruptura folicular. La ovulación ocurre 10 a 12 horas después del coito.<sup>4, 8, 34</sup>

Es importante mencionar que la respuesta ovulatoria resulta diferente según la coloración de los genitales externos. Se ha comprobado, que las conejas cubiertas cuando la vulva está roja ovulan en una proporción del 84.6%, superior al 68.4% de las conejas cubiertas cuando la vulva está rosa.<sup>8</sup>

## **MÉTODOS HORMONALES PARA INDUCIR LA OVULACIÓN**

En la práctica de la inseminación artificial en conejos es preciso utilizar un método para inducir la ovulación, ya que la coneja es un animal de ovulación inducida, debido a que la introducción de la pipeta de inseminación no provoca un estímulo suficiente para que se desencadene la ovulación es necesario emplear otros métodos, como son: intentos de monta de conejas alojadas juntas, monta de machos vasectomizados, estímulos eléctricos cerebrales, lumbosacros, hipotalámicos o hipofisarios, inyección de sales de cobre o inyección de productos hormonales. (Figura 10).<sup>3, 8, 34, 38</sup>

## **HORMONAS UTILIZADAS PARA LA INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN**

### **Factores hipotalámicos liberadores de gonadotropinas**

Los factores hipotalámicos actúan en la monta natural como desencadenante de la liberación de un pico preovulatorio de LH en mayor proporción y FSH en menor medida por parte de la hipófisis. Inyectados vía intramuscular son efectivos para estimular esta misma respuesta.<sup>8</sup>

Se han sintetizado varios análogos de GnRH que difieren de la hormona natural en algunas posiciones claves de sus péptidos. Existen análogos agonistas, que liberan gonadotropinas en mayor cantidad que la propia hormona natural, y análogos antagonistas, que ocupan los receptores de la hormona. Para la inducción de la ovulación en conejas se utilizan frecuentemente los agonistas, que por su pequeño tamaño no provocan la formación de anticuerpos. Los productos

hormonales más utilizados son la Gonadorelina, Burserelina y Cystorelina, generalmente se aplican vía intramuscular, aunque algunos pueden aplicarse también por vía subcutánea.<sup>8, 34</sup>

La gonadorelina es un decapeptido sintético con una estructura idéntica a la de la GnRH que actúa estimulando la liberación y síntesis de LH principalmente y FSH en la hipófisis anterior.<sup>3, 28, 38</sup>

Las dosis habitualmente consideradas como efectivas varían entre 10 y 100 microgramos de GnRH por coneja, obteniendo resultados de fertilidad entre el 100 y el 41%.<sup>8, 28</sup>

La aplicación de GnRH se realiza inmediatamente antes o después de la inseminación artificial. La ausencia de respuesta inmune permite su aplicación de manera repetida sin que se observe descenso en la fertilidad ni la prolificidad. Los resultados de fertilidad en IA dependen más del estado de receptividad sexual de la coneja que de la dosis utilizada de GnRH.<sup>28, 34</sup>

El fracaso de la inseminación artificial en hembras lactantes puede estar asociado al bajo índice de receptividad que manifiestan estas conejas, ya que, en un periodo de un día, el 67% de conejas no lactantes son receptivas al macho, mientras que en hembras lactantes sólo lo son el 30%. Esto significaría que el problema de la inseminación artificial en conejas lactantes está más relacionado con una mayor proporción de hembras con vulvas pálidas que con la lactación por sí misma.<sup>28</sup>

El hecho de que todas las conejas de un lote se inseminen independientemente de su receptividad llevó a conclusiones claras: "sólo las conejas receptivas tienen

aceptables respuestas ovulatorias y por lo tanto más probabilidades de quedar preñadas que las que no lo son”.<sup>33</sup>

### **hCG (Gonadotropina Coriónica Humana)**

Es una hormona obtenida a partir de orina de mujer gestante, esta gonadotropina presenta una acción predominante de tipo LH y actúa sobre el ovario para provocar la ruptura de los folículos preovulatorios. Las dosis aplicadas varían de 30 a 150 UI, obteniéndose cuando se aplican entre 25 a 50 UI porcentajes de ovulación altos (98%). Se ha visto que la tasa de ovulación obtenida con machos vasectomizados y 50 UI de hCG es similar. La vía de administración de esta gonadotropina es endovenosa, lo que supone un grave inconveniente para su empleo en IA a gran escala.<sup>8, 33, 34</sup>

La hCG provoca síntesis de anticuerpos en el animal tratado repetidamente. La aparición de inmunidad se traduce en una disminución progresiva de la tasa de ovulación a partir del tercero o cuarto tratamiento, sin embargo, se ha demostrado que dicha respuesta inmunitaria tiene variaciones individuales importantes.<sup>3, 4, 38</sup>

### **eCG (Gonadotropina Coriónica Equina)**

Ésta hormona tiene actividad folículo estimulante, similar a FSH, y luteinizante, como la LH. La dosis recomendada para conejas es de 20 UI/kg de peso (de 16 a 25 UI). Tiene el inconveniente de producir la formación de anticuerpos, llega a ser inefectiva para inducir la ovulación.<sup>8, 28</sup>

## **OTROS MÉTODOS PARA INDUCIR LA OVULACIÓN**

### **Machos vasectomizados**

El empleo de machos vasectomizados (MV) es el método que más se aproxima a la monta natural, de manera que aun manteniendo producción de espermatozoides y libido, es infértil por presentar azoospermia en el eyaculado. La utilización de este método presenta el inconveniente de requerir una elevada proporción de machos a los cuales se le debe realizar una operación quirúrgica.<sup>8,</sup>

28

Los resultados en cuanto a la tasa de ovulación y de gestación obtenidas, son similares a los conseguidos por medio de la monta natural, sin embargo, presenta la ventaja de que se utiliza para la inseminación fecundante un eyaculado cuya calidad ha sido contrastada previamente.<sup>8, 28</sup>

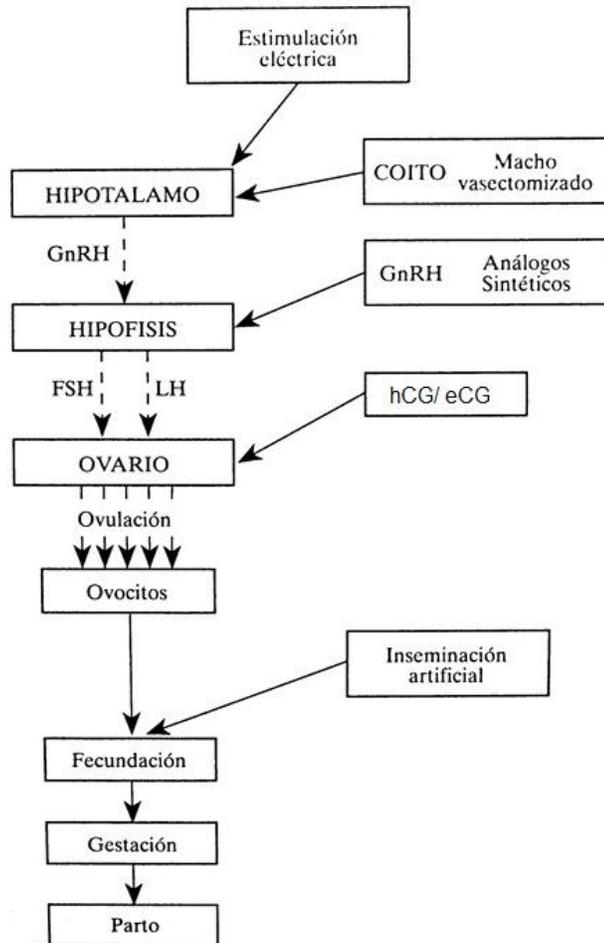
### **Estimulación eléctrica**

La estimulación eléctrica de áreas cerebrales ha resultado efectiva para inducir la ovulación. Su acción se ejerce sobre la hipófisis provocando la liberación de un pico de LH con características similares al pico preovulatorio que sigue al coito. Sin embargo, si se compara la tasa de fertilidad obtenida con GnRH y con la estimulación eléctrica, esta última resulta muy baja con solo un 26%.<sup>8</sup>

### **Sales de cobre**

El gluconato de cobre inyectado a una dosis de 1mg por kg de peso vivo, también produce un efecto ovulatorio, obteniendo una tasa de gestación de 86% y un

tamaño de camada de 7 gazapos, lo cual es equivalente a los resultados obtenidos con machos vasectomizados.<sup>8</sup>



**Figura 10.** Esquema del lugar de acción según distintos métodos inductores de la ovulación. Modificado de Alvariño 1993.<sup>8</sup>

## APAREAMIENTO

El comportamiento sexual en el conejo durante el apareamiento consta de 5 elementos, pueden o no presentarse todos los elementos, ya que su manifestación depende del ambiente y del propio animal.<sup>24</sup>

1) Persecución: se presenta casi exclusivamente en vida libre. Consiste en el seguimiento de la hembra a corta distancia hasta que la hembra se agazapa y se queda inmóvil.<sup>24</sup>

2) Señalización: consiste en que el macho va de un lado a otro tratando de hacer visible la cara inferior de la cola para estimular visualmente a la hembra.<sup>24</sup>

3) Estímulos olfativos: el macho orina varias veces contra la hembra.<sup>24</sup>

4) Fase de cortejo: los animales se colocan frente a frente y se lamen recíprocamente o bien el macho provoca la estimulación táctil mediante mordiscos en el dorso y grupa de la hembra<sup>24</sup>

5) Cópula: El macho realiza la monta mientras la hembra permanece agazapada y levanta ligeramente la grupa, la hembra es sujeta por la cadera con los miembros anteriores del macho y fijada por la piel del dorso con los dientes. Se producen reflejos de búsqueda, penetración y eyaculación vaginal, la cual va acompañada por el "salto" del macho, donde este cae de lado o hacia atrás, en algunas ocasiones el macho emite un chillido.<sup>4, 24</sup>

La cópula (Figura 11), es muy rápida, teniendo una duración en promedio 70 segundos y puede ser repetida varias veces.<sup>8</sup>

El comportamiento sexual (libido) se asocia con el volumen de eyaculado y concentración espermática. Los animales más agresivos tienen un mayor volumen, una menor concentración y un mayor porcentaje de espermatozoides vivos que los menos agresivos.<sup>8</sup>



**Figura 11.** Monta natural.

## **INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

La práctica de IA tiene cuatro importantes etapas: recolección de semen, valoración del eyaculado, dilución para la obtención de dosis y aplicación.

### **Material para la recolección de semen**

En el caso del conejo la recolección de semen se realiza con la ayuda de una vagina artificial, que es un receptáculo que trata de proporcionar al órgano copulador los estímulos térmicos, mecánicos y de elasticidad necesarios para la eyaculación.<sup>8, 33</sup>

La vagina artificial (VA) está constituida por un cuerpo cilíndrico de plástico rígido o semirígido con dos aberturas, en una de ellas se coloca el tubo recolector y la otra permite la introducción del pene. El interior de la VA debe cubrirse con una

camisa de látex de longitud mayor que el cuerpo de la misma para que sus bordes se puedan invertir y fijar al cuerpo. La camisa de látex forma una cámara de doble pared destinada a contener agua caliente y aire para proporcionar la temperatura y presión necesaria para que se produzca la eyaculación.<sup>8, 25, 33</sup>

El tubo recolector para el eyaculado puede ser de material plástico o vidrio y debe estar graduado y estéril. (Figura 12).<sup>8, 25, 33</sup>



**Figura 12.** Material para la recolección de semen.

### **Recolección de semen**

Una vez montada la vagina artificial, la cámara formada por la camisa de látex se llena de agua caliente, para trabajar a una temperatura de 40 a 42 °C y se coloca el tubo recolector en uno de los extremos, la recolección se efectúa en la jaula del

macho entrenado previamente, el operador introduce el brazo recubierto con una piel curtida de conejo para simular a la hembra, mientras con la mano sostiene la VA, una vez que el macho se monta, el operador dirige la VA hacia el área genital del macho para que este penetre fácilmente sin lastimarse (Figura 13), la eyaculación se realiza de la misma manera que en la monta natural, empujando hacia adelante y posteriormente cayendo de espaldas o de costado. Una vez recolectado el semen se saca el tubo recolector con cuidado, evitando el contacto directo con el agua contenida en la VA, por sus efectos letales.<sup>8, 20, 25, 33</sup>



**Figura 13.** Recolección de semen con vagina artificial.

Si la temperatura interior de la VA supera los 42 °C, el macho orinará en la vagina o simplemente no eyaculará, además se corre el riesgo de producir lesiones en el

pene. Si la temperatura se encuentra por debajo de los 40 °C no existirá suficiente estímulo térmico y el conejo no eyaculará.<sup>8</sup>

Los espermatozoides son sensibles a varios factores ambientales que podrían modificar las características del semen, por lo que es preciso protegerlos de: choques térmicos, productos químicos nocivos o agua, evitar la exposición prolongada al sol o cualquier otro tipo de radiación y evitar agitar demasiado la muestra.<sup>8</sup>

### **Material para la valoración del eyaculado**

En la práctica de la IA es muy importante la valoración del eyaculado para conocer su calidad, ya que con el semen recolectado de un animal se pueden inseminar a muchas hembras y un semen de mala calidad producirá bajos porcentajes de fertilidad. El examen se realiza inmediatamente después de la obtención del eyaculado.<sup>8, 18</sup>

Los métodos de valoración de semen utilizados rutinariamente son de forma macroscópica y microscópica.<sup>8, 26, 33</sup>

Para el examen macroscópico no se requiere ningún material, ya que el procedimiento es sensorial.<sup>8</sup>

La realización del examen microscópico requiere un microscopio, portaobjetos, cubreobjetos, pipetas Pasteur, cámara de Neubauer, pipeta cuenta glóbulos o hematocitómetro, baño María y platina térmica. (Figura 14).<sup>8</sup>



**Figura 14.** Material para la evaluación microscópica del eyaculado.

## **VALORACIÓN DEL EYACULADO**

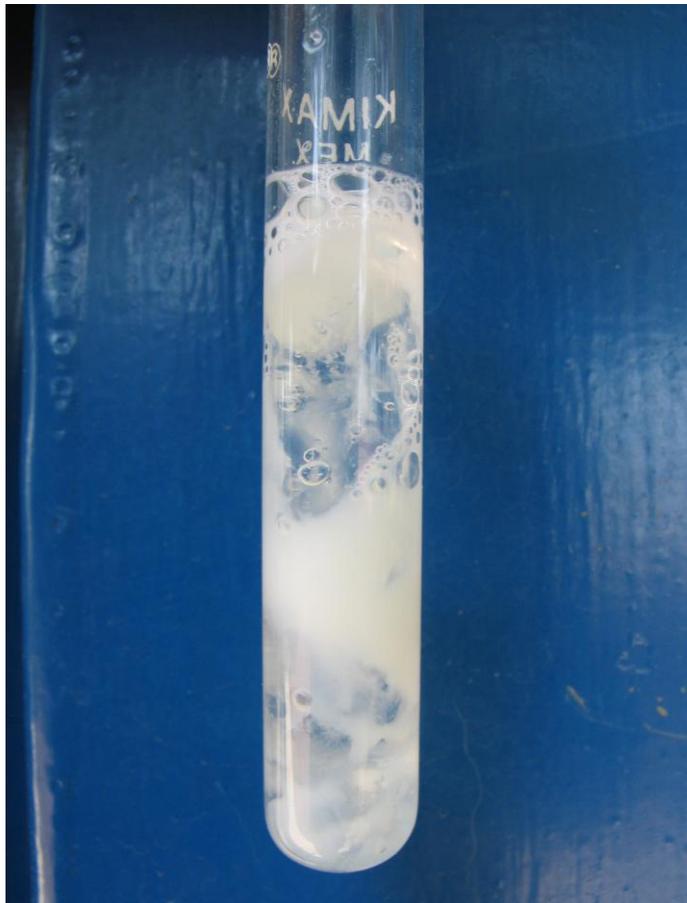
### **Valoración macroscópica**

Se realiza observando directamente el semen a través del tubo colector evaluando:

**Aspecto (color y olor):** El eyaculado debe tener un aspecto uniforme, opaco y de un color blanco nacarado. Al observar su opacidad se tiene referencia respecto a la concentración, un eyaculado traslúcido es indicativo de una baja concentración espermática y un eyaculado opaco es por lo general de una elevada concentración, sin embargo, no siempre es así.<sup>26</sup>

Los conejos son animales de eyaculación bifásica, presentando una porción, secretada por las glándulas accesorias compuesta de líquido traslúcido, viscoso,

con pequeñas gotas de grasa y microcristales (gel) y otra parte compuesta por el líquido seminal y los espermatozoides.<sup>8</sup> Cuando se observa la presencia de gel en el eyaculado (Figura 15), este debe ser retirado inmediatamente con la ayuda de una pipeta Pasteur, ya que dicha sustancia tiene un efecto aglutinador sobre los espermatozoides (Figura 16), causando una pérdida en la motilidad de los mismos y la alcalinización del semen.<sup>8, 26</sup>



**Figura 15.** Presencia de gel en el eyaculado.



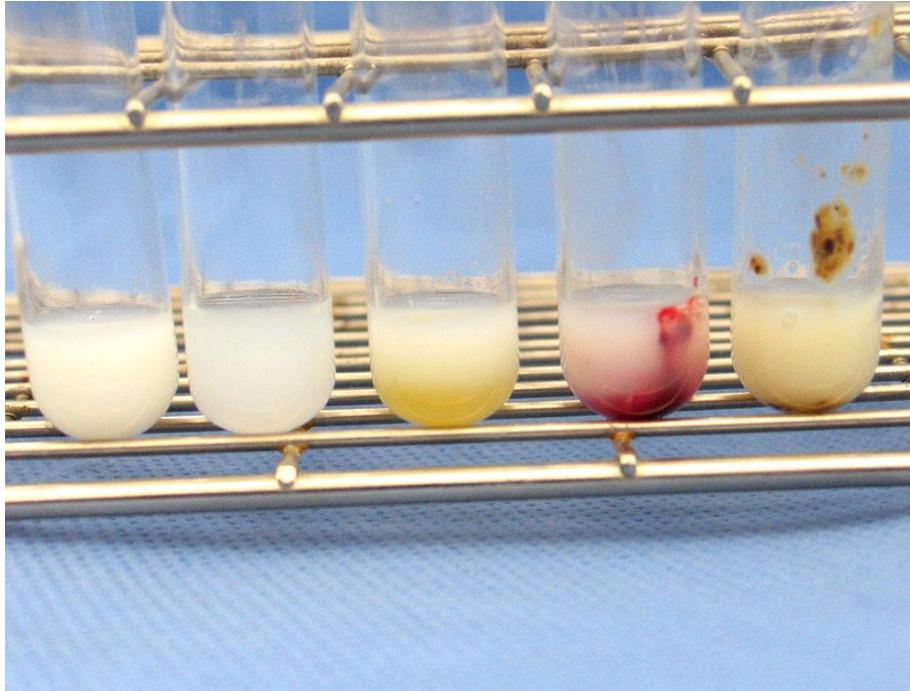
**Figura 16.** Efecto aglutinante del gel sobre los espermatozoides.

**Color:** La coloración óptima del eyaculado, es blanco nacarado, sin embargo, los eyaculados obtenidos no siempre presentan este color, ya que este puede ser alterado por la presencia de elementos anormales.<sup>8, 26</sup>

En el caso de observar cualquiera de las siguientes coloraciones (Figura 17), el eyaculado no es apto para su utilización y debe ser desechado.<sup>8, 26, 33</sup>

- a) Amarillo: Indica la presencia de orina o exudado purulento.
- b) Rojizo: Debido a sangre fresca procedente de lesiones en el pene o por administración prolongada de fenotiazina.
- c) Marrón: Existencia de elementos sanguíneos degenerados o heces.
- d) Blanquecino o transparente: Indica baja concentración.

- e) Opaco: Ante ciertas alteraciones testiculares con paso de células gigantes a través del epidídimo o por inflamación de las vesículas seminales.<sup>8, 26</sup>



**Figura 17.** Coloraciones que pueden observarse en el eyaculado.

**Volumen:** En los conejos el volumen normal del eyaculado oscila entre 0.3 y 1.0 ml, algunos autores mencionan la existencia de eyaculados de hasta 3.0 ml, correspondiendo este incremento a un aumento de la secreción de las glándulas accesorias.<sup>8, 19, 26, 33, 39</sup>

### **Valoración microscópica**

Consiste en analizar la motilidad en masa e individual y concentración.

## **Motilidad**

Es un elemento importante para determinar la calidad del eyaculado, ya que es una característica de la célula espermática y es imprescindible para que se produzca la fecundación.<sup>8, 26, 33</sup>

La técnica más sencilla para evaluar la motilidad consiste en la valoración visual del porcentaje de espermatozoides motiles y la calidad de su movimiento pudiendo ser de dos tipos: Movimiento de rotación (alrededor de su eje) y movimiento progresivo (desplazamiento celular), el cual puede ser lineal o circular.<sup>26</sup>

Para la realizar la valoración de la motilidad el material debe estar en normocinesis (temperatura de 37 °C).<sup>8</sup>

**Motilidad en masa:** Es un movimiento de superficie que refleja la proporción de espermatozoides que presentan algún tipo de movimiento. Para observarlo se deposita una gota de semen puro en un portaobjetos atemperado a 37 °C y se observa la microscopio con el objetivo de 40x para asignar un valor de 0 a 5 (0, 20, 40, 60, 80 ó 100%) de acuerdo a la proporción de espermatozoides motiles, el valor asignado es determinado de manera subjetiva por el operador. Para la IA se utilizan aquellos eyaculados que presenten una motilidad en masa mínima de 3 a 5 (60 a 100%) ya que la fertilidad depende en gran medida de la motilidad en masa.<sup>8, 26, 33</sup>

**Motilidad individual:** Para su determinación, el eyaculado debe ser diluido previamente, se deposita una gota en un portaobjetos atemperado colocando un

cubreobjetos sobre la muestra y se lleva a cabo la evaluación (Figura 18), este tipo de valoración es subjetiva. El movimiento típico de los espermatozoides de conejo es rectilíneo progresivo, considerando el movimiento circular o las vibraciones sin desplazamiento, como movimientos defectuosos que disminuyen la calidad del semen. Un eyaculado de buena calidad debe presentar movimiento rectilíneo progresivo en más del 50% de los espermatozoides motiles.<sup>8, 26, 33</sup>

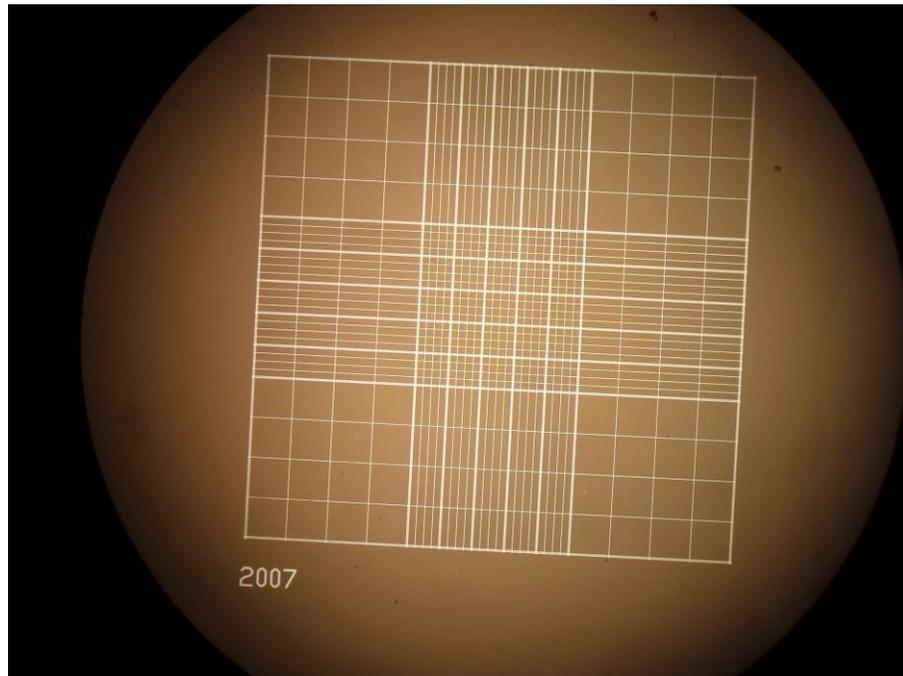


**Figura 18.** Evaluación de la motilidad individual.

### **Concentración**

Expresa el número de espermatozoides por  $\text{mm}^3$ . El método más utilizado es el conteo mediante cámara de Neubauer (Figura 19). La concentración varía según la raza e individuo oscilando entre  $150 - 900 \times 10^6$  espermatozoides/ml, siendo óptima a partir de  $250 \times 10^6$ .<sup>8</sup>

La concentración influye en la prolificidad, sin embargo, también lo hacen los fluidos orgánicos del aparato reproductor femenino, ya que parece ser que pueden prolongar la vida media de los espermatozoides una vez que son depositados en él.<sup>33</sup>



**Figura 19.** Vista a 4X de la cámara de Neubauer.

## **DILUCIÓN DEL EYACULADO**

Una vez que se ha concluido con la evaluación del eyaculado se procede a la dilución del mismo (Figura 20). La dilución permite aumentar el volumen total, proporcionar un medio favorable para la supervivencia *in vitro* de los espermatozoides y realizar, a partir de un solo eyaculado, la inseminación de un número elevado de hembras.<sup>8</sup>

Los diluentes pueden dividirse en dos grupos: a) Diluentes iónicos: Son utilizados cuando se va a inseminar con semen fresco (hasta 4 horas después de la

recolección) un ejemplo de ellos es el suero fisiológico. Y b) Diluentes orgánicos: Se utilizan para periodos de conservación más largos en refrigeración o congelación. Los más utilizados están elaborados con TRIS como tampón orgánico, fuentes energéticas como la glucosa o fructosa y antibióticos.<sup>8, 33</sup>

En la actualidad se añaden componentes gelatinosos a los diluentes que solidifican la dosis seminal facilitando el manejo y transporte además de reducir los daños en el acrosoma durante periodos largos de conservación.<sup>33</sup>

La dilución se realiza con el medio diluyente atemperado de 37 a 38 °C en un recipiente estéril seco, teniendo en cuenta la concentración espermática y considerando el número mínimo de espermatozoides para cada dosis de 10 a 20 x 10<sup>6</sup> en un volumen de 0.5 a 1.0 ml.<sup>8, 33</sup>



**Figura 20.** Material para la dilución del eyaculado.

## **CONSERVACIÓN DEL EYACULADO**

Refrigeración. Consiste en mantener el semen diluido a una temperatura de 4 a 5 °C, pudiendo ser utilizado para IA hasta 24 a 36 horas después de la dilución.<sup>8</sup>

Otros autores mencionan haber obtenido resultados competitivos de la refrigeración a 15 – 18 °C y han establecido intervalos de conservación viables que no superan las 72 horas de almacenamiento.<sup>33</sup>

La técnica consiste en diluir el semen a 37 – 38 °C e inmediatamente someterlo a un enfriamiento progresivo introduciéndolo al refrigerador a una temperatura de 5 °C para hacer el descenso térmico lo más gradual posible y evitar un choque térmico.<sup>8</sup>

Congelación: Este método no ha permitido resultados tan favorables como la refrigeración debido a la alta mortalidad de espermatozoides al momento de congelar y descongelar el eyaculado.<sup>33</sup>

## **MATERIAL PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

Para la deposición del semen en el tracto genital de la coneja, se utilizan pipetas de plástico que en el extremo final poseen una curvatura de 45°, el otro extremo se acopla a una jeringa.<sup>28</sup>

Se han ideado dispositivos de sujeción que permiten realizar la inseminación por un sólo operador permitiendo que este tenga las manos libres. El dispositivo consta de un cilindro de fondo ciego el cual posee orificios en su extremo para permitir la ventilación de la coneja y debe estar inclinado a 23° con respecto a la superficie que lo sujeta, la hembra se introduce en él con la cabeza orientada

hacia el fondo del cilindro. En la inseminación de la coneja como se mencionó, es indispensable la aplicación de hormonas para inducir la ovulación.<sup>8, 28</sup> (Figura 21).



**Figura 21.** Material para la Inseminación artificial.

## **DEPOSICIÓN DEL SEMEN**

La sujeción de la hembra se realiza elevando el tercio posterior de la coneja, sujetando el rabo y la piel del lomo, o bien utilizando un dispositivo de sujeción. Una vez preparada la hembra, se introduce la pipeta por la vulva con la curvatura hacia la parte dorsal, evitando así la introducción en el meato urinario (Figura 22). Cuando se ha superado la pelvis, la pipeta se gira 180° y se continúa la introducción hasta 8 – 14 cm, momento en que se topa con la entrada de los cérvix. Entonces se presiona el embolo de la jeringa para depositar la dosis seminal, a continuación se retira lentamente la pipeta. Todo el procedimiento debe

realizarse con delicadeza para evitar producir lesiones internas a la coneja, finalmente se aplica la dosis hormonal para inducir la ovulación. (Figura 23)<sup>8, 33</sup>



**Figura 22.** Inseminación artificial en la coneja.



**Figura 23.** Aplicación de GnRH vía intramuscular

## **JUSTIFICACIÓN**

El presente estudio tiene como finalidad evaluar la inducción de la ovulación en conejas Nueva Zelanda Blanco, mediante monta natural con machos vasectomizados o con un análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH); para evaluar cuál de los dos procedimientos induce a una mejor respuesta de la ovulación, ya que la información existente en México acerca de este tema es escasa y data de por lo menos 20 años atrás, tiempo en el cual el conejo Nueva Zelanda Blanco ha mejorado algunos parámetros reproductivos como son: fertilidad, fecundidad, prolificidad y peso de la camada al nacimiento, por lo que se requiere realizar más estudios con el objeto de generar más información al respecto.

## **HIPÓTESIS**

La utilización de monta natural con machos vasectomizados induce una mejor respuesta a la ovulación en conejas receptoras Nueva Zelanda Blanco, en comparación con el uso de Gonadorelina.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar que método es más eficiente en la inducción de la ovulación de las conejas receptoras Nueva Zelanda Blanco, la monta natural con machos vasectomizados o la aplicación de Gonadorelina.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

La investigación se realizó en el área Cunícola del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, el cual se localiza en la calle Salvador Díaz Mirón número 89 en la colonia Zapotitlán, Delegación Tláhuac, Distrito Federal a una altura de 2250 msnm, en el paralelo 19° 17' latitud norte y el meridiano 99° 02' 30'' longitud oeste. Bajo condiciones de clima templado subhúmedo (Cw), enero es el mes más frío y mayo el más caluroso, la temperatura promedio anual es de 16°C con una precipitación pluvial anual media de 77mm.

Se utilizaron conejos de la raza Nueva Zelanda Blanco (NZB), 50 hembras reproductoras (núlparas, de segundo y tercer parto) de 4 a 7 meses de edad, 2 machos vasectomizados de 7 y 8 meses de edad y 1 macho fértil de 2 años de edad para la recolección de semen. Los machos vasectomizados y las hembras se alojaron individualmente en jaulas tipo americano dentro de una caseta convencional con ventilación natural controlada mediante cortinas laterales; el macho fértil se alojó individualmente en una jaula de tipo modular en una caseta diferente, bajo las mismas condiciones ambientales, no se realizaron mediciones de temperatura, humedad ni iluminación debido a que el centro de enseñanza no dispone de los instrumentos necesarios (termómetro, higrómetro y luxómetro).

Se utilizó una dieta comercial en forma de pellet para reproductores y los animales fueron alimentados de acuerdo a su estado fisiológico<sup>4</sup>, con la finalidad de evitar el sobrepeso, el agua se ofreció a libre acceso.

El macho fértil fue entrenado para la recolección de semen con vagina artificial sostenida por el brazo de un operador cubierto con una piel curtida de conejo, para simular a la hembra. La recolección de semen se realizó cada 7 días entre las 9 y 10 de la mañana, se obtuvieron dos eyaculados por día, con un intervalo de 10 minutos entre cada eyaculado.<sup>8</sup> Una vez recolectado el semen se evaluó para determinar su calidad. A nivel macroscópico se evaluó el volumen, color, apariencia y presencia de gel; a nivel microscópico se observó la motilidad en masa e individual de los espermatozoides determinando la concentración espermática del eyaculado mediante el conteo celular con cámara de Neubauer<sup>8</sup> para su posterior dilución donde se empleó un diluyente comercial (Triladyl<sup>®</sup>), el cual fue diluido con agua bidestilada para obtener una concentración de 1:15.<sup>40</sup> El semen fue utilizado en fresco diluido a una concentración de 20 millones de espermatozoides por dosis en un volumen de 0.5 ml.<sup>8</sup>

Para determinar las conejas a inseminar, se tomó en cuenta la receptividad, empleando únicamente aquellas que presentaron una vulva roja y edematizada. Con la finalidad de mejorar la receptividad de las hembras fue utilizado como método de bioestimulación la manipulación de los animales, la cual consistió en trasladar individualmente a las conejas durante 15 minutos dentro de cajas transportadoras, 30 minutos antes de la IA<sup>7</sup>. Las conejas fueron inseminadas y posteriormente aplicado el método inductor de la ovulación, para lo cual se dividieron en 2 grupos de 25 hembras cada uno, distribuidas al azar; en el primer grupo la ovulación fue inducida mediante la aplicación de 15 microgramos vía intramuscular (IM) de Gonadorelina<sup>8</sup> y en el segundo grupo la ovulación se indujo mediante monta natural con un macho vasectomizado.<sup>12</sup>

Los tratamientos quedaron de la siguiente manera:

- 1.- Conejas con ovulación inducida con gonadorelina
- 2.- Conejas con ovulación inducida con macho vasectomizado

Los datos de fertilidad (gestante y no gestante) en cada una de las conejas se obtuvieron a los 13 días de haber sido inseminadas mediante el diagnóstico de gestación por palpación abdominal y los datos de número de gazapos al nacimiento (vivos y muertos) fueron obtenidos el día del parto que ocurrió a los  $31 \pm 1$  días posteriores a la IA.

Los datos individuales del número de gazapos al nacimiento y la fertilidad de las conejas por tratamiento fueron tomados como una observación para el análisis estadístico.

Los datos obtenidos de las variables: fertilidad (número de hembras gestantes y no gestantes), número de gazapos nacidos totales, número de gazapos nacidos vivos, número de gazapos nacidos muertos, peso de la camada al nacimiento, número de gazapos destetados totales, peso de la camada al destete y el número de gazapos muertos en lactancia fueron sometidos a un análisis de varianza y comparados mediante pruebas de T de Student, para lo cual se utilizó el programa estadístico SPSS para Windows versión 17.0

## RESULTADOS

Los datos obtenidos para fertilidad (número de hembras gestantes y no gestantes), pueden observarse en el Cuadro 1. Se puede apreciar claramente que en el tratamiento 2 con GnRH existió mayor cantidad de hembras gestantes ( $P < 0.05$ ), respecto al tratamiento 1 con macho vasectomizado, el cual fue superado con 44% más de hembras gestantes.

Los resultados adquiridos para las variables: número de nacidos totales, número de nacidos vivos, número de nacidos muertos y peso de la camada al nacimiento se muestran en el Cuadro 2. Puede observarse que para el número de nacidos totales y número de nacidos vivos hubo diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos con un mayor número de gazapos nacidos totales (en promedio 3.08 gazapos) en el tratamiento 2 en relación al tratamiento 1. Para el peso de la camada al nacimiento, se puede apreciar que el tratamiento con GnRH tuvo ( $P < 0.05$ ) mayor peso de la camada (en promedio 162.8g) respecto al tratamiento con macho vasectomizado. Sin embargo, para la variable número de nacidos muertos no existió diferencia ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos.

Los datos obtenidos para el número de gazapos destetados totales, peso de la camada al destete y número de muertos en lactancia se encuentran en el Cuadro 3. Para el número de destetados totales existió diferencia ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos ya que en promedio el número de gazapos destetados totales en el tratamiento con gonadorelina fue mayor (2.71 gazapos destetados) versus al tratamiento con macho vasectomizado. Para la variable peso de la camada al destete, se aprecia que en promedio el tratamiento 2, fue mejor ( $P < 0.01$ ) que el

tratamiento 1, con un mayor peso de la camada al destete de 2.49 kg en relación al tratamiento con macho vasectomizado. Sin embargo, para el número de muertos en lactancia los datos obtenidos no indicaron diferencias ( $P>0.05$ ) entre tratamientos.

## DISCUSIÓN

Con base a los resultados sobre el número de hembras gestantes en este estudio, se encontró que fue mayor mediante el uso de GnRH que con el empleo de macho vasectomizado, estos datos coinciden en parte con lo encontrado por Khalifa (2000)<sup>11</sup>, quien observó que el empleo de GnRH a las 0 horas post inseminación artificial el IC fue de 67.9 %. Sin embargo, a las 10 horas post IA disminuyó a 36.1% y para el uso de machos vasectomizados fue de 66.7 %, comparado con los datos del presente estudio en donde se obtuvo el 100% de IC con la aplicación de GnRH y con el uso de macho vasectomizado fue de 56 %, el cual fue menor al obtenido por el citado estudio. En cuanto al número de nacidos totales y peso de la camada al nacimiento con el empleo de MV este mismo autor obtuvo 5.4 gazapos y 326.5 g respectivamente y para el uso de GnRH 5.5 gazapos y 292.2 g respectivamente. En comparación con los datos obtenidos en este estudio donde el uso de GnRH tuvo los mejores resultados en el número de nacidos totales (8.2 gazapos) y peso de la camada al nacimiento (422.8 g) y menores resultados con MV (5.12 gazapos y 260.0 g respectivamente).

En otra investigación llevada a cabo por Khalifa (1994)<sup>12</sup>, encontró que la inducción de la ovulación con MV obtuvo menor mortalidad en lactancia (8.7 %), mayor peso al destete (576.2 g) y menor tamaño de la camada al nacimiento (4.1 gazapos) en comparación con monta natural (18.8 %, 485.8g y 6.63 gazapos respectivamente). En relación a los datos obtenidos en la presente investigación el empleo de MV logró menor mortalidad en lactancia (7.81%), mayor peso al destete

(912 g) y mayor tamaño de la camada al nacimiento (5.12 gazapos). Sin embargo, los datos con GnRH no fueron estudiados por este investigador.

Nieto (1983)<sup>13</sup> observó que el uso de macho vasectomizado tuvo 44% de fertilidad y un total de 108 gazapos al nacimiento frente a GnRH con 56% de fertilidad y 158 gazapos al nacimiento. Estos resultados coinciden con los observados en este experimento donde el empleo de MV tuvo menores resultados que el uso de GnRH. Sin embargo, en cuanto al empleo de MV se refiere se observó 56 % de fertilidad, lo cual representó un aumento de 12%. En relación al número de gazapos al nacimiento se lograron 128 gazapos, lo que indica que se obtuvieron 20 gazapos más con respecto a lo citado por dicho autor. Por otro lado, la aplicación de GnRH en esta investigación se logró una fertilidad del 100% y 205 gazapos al nacimiento, lo que significó un aumento de la fertilidad (44%) y 47 gazapos más al nacimiento en comparación con lo observado por el mismo investigador.

En un estudio evaluaron el porcentaje de fertilidad empleando GnRH como inductor de la ovulación (10 microgramos por coneja) aplicándolo en 10 hembras nulíparas y 10 hembras de segundo parto, donde encontraron que el porcentaje de fertilidad en hembras nulíparas fue de 67% y en hembras de segundo parto de 75% tal como lo indica Ceballos (1981)<sup>15</sup>, los resultados obtenidos en el reciente experimento indican que se consiguió el 100% de fertilidad en hembras de segundo y tercer parto lo que representa 25% más de fertilidad, ésta diferencia puede explicarse ya que en este estudio se aplicaron 5 microgramos más de análogo sintético de GnRH por coneja, razón por la cual se pudo obtener mayor respuesta a la ovulación, la literatura indica que existe la posibilidad de que a

mayor dosis exista mayor respuesta viéndose influenciado por el grado de receptividad de la hembra.<sup>28</sup> (Rodríguez et al. 1983; Egea et al. 1983, Roca y Fanlo 1983)<sup>33</sup>. También es factible que la baja en la fertilidad lograda en estos estudios pueda deberse a que hace 30 años no existía el avance en las técnicas de bioestimulación, manejo y preservación de espermatozoides entre otros, que en la actualidad se tienen.

Cabe señalar que la variable número de nacidos muertos no fue evaluada por los investigadores antes mencionados, por lo que no existen referencias para comparar y analizar ésta variable.

Por último, es importante destacar que existen pocos estudios al respecto por lo que se sugiere seguir investigando al respecto para poder generar nueva información ya que la raza actual de conejos NZB ha mejorado en cuanto a parámetros reproductivos.

## **CONCLUSIONES**

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio y bajo las condiciones empleadas se puede concluir:

La aplicación de GnRH resultó ser más efectiva que la monta natural con macho vasectomizado para inducir la ovulación en conejas NZB.

La administración de 15 microgramos de GnRH por coneja vía intramuscular obtuvo mayor número de hembras gestantes, número de nacidos totales, número de gazapos destetados totales, número de muertos en lactancia, número de nacidos vivos, peso de la camada al nacimiento, peso de la camada al destete, número de machos y hembras al destete con relación al empleo de macho vasectomizado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Moreno FCL. Aportación a la historia de la inseminación artificial ganadera en España. Su significado en el desarrollo pecuario y la repercusión económica en el periodo 1931-1971. (Tesis doctoral), Madrid, España. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid 2002.
2. Foote RH. The history of artificial insemination. Am Soc of Anim Sci 2002; 80:1 – 10.
3. Rodríguez STM. Inducción de la ovulación. Boletín de cunicultura. 2004; 134:51 – 54.
4. Martínez CMA. Cunicultura. 2ª ED. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, 2004: 143 – 145.
5. Pérez PF. Reproducción e inseminación artificial ganadera. 1ª. Ed. España: Científica Médica, 1966:428.
6. Rebollar GP, Alvariño JMR. Evolución del manejo reproductivo en cunicultura. Memorias XXVII Symposium de Cunicultura; 2002 Mayo 67-73; España: Asociación Española de Cunicultura, 2002:29 – 31.
7. González UR. Bioestimulación en la coneja reproductora. Alternativas a los tratamientos hormonales. Cunicultura 2005; 173:7 – 16.
8. Alvariño JMR. Control de la reproducción en el conejo. Mundi Prensa. España 1993:137.
9. Hafez ESE. Reproducción e inseminación artificial en los animales. 7ª Ed. McGraw – Hill Interamericana, México 2002.

10. Echegaray TJL, Mendoza AMB, Salcedo BR. Inseminación artificial en conejos y su aplicación en granjas cunícolas en México. *Conejo Internacional* 2004; 13:6 – 14.
11. Khalifa RM, El-Alany MA, Beshir MA. Vasectomized buck gave better reproductive results in artificial insemination techniques in rabbits than GnRH or hCG. *Memorias 7º Congreso mundial de cunicultura*. Valencia, España 4 al 7 de julio de 2000.
12. Khalifa RM. Mating frequency and artificial insemination in rabbits using vasectomized buck. *World Rabbit Science* 1994;2:1-5.
13. Nieto VA. Valoración de la fertilidad en conejas Nueva Zelanda Blanco utilizando tres métodos inductores de la ovulación (Tesis de licenciatura) D.F. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México 1983.
14. Quintanella LA, *et al.* Inducción de la ovulación en conejas mediante la administración intravaginal de ([des-Gly10, D-Ala6]-LHRH ethylamide). Estudio preliminar. *II Congreso ibérico de cunicultura*. Villa Real Tras-os-Montes, Portugal 5 y 6 junio de 2007.
15. Ceballos EBJC. Valoración de la fertilidad en conejas Nueva Zelanda Blanco utilizando tres métodos inductores de la ovulación (Tesis de licenciatura) D. F. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 1981.
16. Cunningham JG, Klein BG. *Fisiología Veterinaria*. 4ª edición. Elsevier. Barcelona, España 2009.

17. Alquicira NJC, *et al.* Fisiología Veterinaria e introducción a la fisiología de los procesos productivos. 1ª edición. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México 2010.
18. Hernández PJE, Fernández RF. Cuadernos reproducción. Reproducción de siete especies domésticas. 1ª edición. Universidad Autónoma Metropolitana. D. F. México 1999.
19. Rosell JM. Enfermedades del conejo. Tomo 1. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España 2000.
20. Lebas F, *et al.* El conejo, cría y patología. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Roma Italia 1996.
21. McLaughlin CA, Chiassan RB. Laboratory anatomy of rabbit. Third edition. McGraw Hill. United States of America 1990.
22. Ptaszynska M, Molina JJ. Compendium de reproducción animal. Intervet internacional by edición latinoamericana. Sinervia Uruguay/Paraguay 2007.
23. Galina C, Valencia J. Reproducción de los animales domésticos. 3ª edición. Limusa, México 2008.
24. Smidt D. Endocrinología y fisiología de la reproducción de los animales zootécnicos. Acribia. Zaragoza, España 1972.
25. McDonald LE. Endocrinología veterinaria y reproducción. 4ª edición. McGraw Hill interamericana. México 1989.
26. González UR. Contrastación seminal. Cunicultura diciembre 2002.
27. Zárate BPI. La reproducción del conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*) y el desarrollo de las nuevas técnicas reproductivas. (Tesis de licenciatura)

- Michoacán, México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo 2006.
28. Mendoza AB, Echegaray JL. Anatomía y fisiología reproductiva y su aplicación y su aplicación en el manejo de explotaciones cunícolas. II Curso de Inseminación artificial en conejos. Universidad Autónoma Chapingo 2002.
  29. García SA. Fisiología Veterinaria. McGraw Hill Interamericana, España 1995.
  30. Mendoza AB. Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la coneja (primera de dos partes). Conejo internacional. Año 2, No. 8 febrero 2004.
  31. Wersbroth SH. The biology of the laboratory rabbit. Academic press inc. United States of America 1974.
  32. Martín M, Ferres J. De monta natural a inseminación artificial. Boletín de cunicultura No. 127 mayo- junio 2003.
  33. Rebollar GP, Inseminación artificial en la cunicultura empresarial. Memorias IV Ciclo internacional de conferencias en cunicultura empresarial. Universidad Autónoma Chapingo. México 4 de octubre de 2006.
  34. Alvariño JMR, Rebollar PG. Control de la reproducción en cunicultura: Tratamientos hormonales. Boletín de cunicultura. No. 77 enero – febrero 1995.
  35. García VAR, Romero VR., Serrato OL., Salazar LG. Control de la lactación como bioestímulo para mejorar la receptividad y la fertilidad en conejas reproductoras. Conejos. Año 1, No. 2 abr – may- jun 2004.

36. Pereda N, Burgos I., Milanés A., Rebollar PG., Millán P., Lorenzo PL. Estudio descriptivo del sistema reproductor de conejas sometidas a diferentes métodos de sincronización de celo. XXIX Simposium de Cunicultura de ASESCU, Lugo 2004.
37. González UR. Iluminación en la granja Cunícola. Influencia en el ciclo reproductivo y métodos de aplicación. Cunicultura junio 2004.
38. Rodríguez STM. Inducción de la ovulación. Conejo internacional. Año 8 No. 45, mayo-junio 2010.
39. Mayolas E. Conejos para carne. Estrategias de producción, gestión económica y comercialización. 3ª edición. Hemisferio sur. Buenos Aires, Argentina 2007.
40. Monroy MLA. El manejo de diluentes, un elemento fundamental en la inseminación artificial cunícola. (Trabajo Profesional). D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, 2008.

## ANEXOS

Cuadro 1. Número de conejas NZB con gestación positiva y negativa.

TRATAMIENTO	Número de hembras gestantes	Número de hembras no gestantes
1.Macho vasectomizado	14a	11a
2. Inducción con GnRH	25b	0b

Valores con distinta letra son diferentes (P<0.05)

Cuadro 2. Resultados obtenidos de nacencias en conejas NZB con ovulación inducida utilizando macho vasectomizado y gonadorelina.

TRATAMIENTO	Número de nacidos totales	Número de nacidos vivos	Número de nacidos muertos	Peso de la camada al nacimiento (g)
1.Macho vasectomizado	5.12a*	4.48a**	0.64a	260.0a**
2. Inducción con GnRH	8.20b	7.28b	0.92a	422.8b

\*Valores con distinta letra son diferentes (P<0.05)

\*\* Valores con distinta letra son diferentes (P<0.01)

**Cuadro 3. Resultados obtenidos al destete en conejas NZB con ovulación inducida utilizando macho vasectomizado y gonadorelina.**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Número de gazapos destetados totales</b>	<b>Peso de la camada al destete (kg)</b>	<b>Número de muertos en lactancia</b>
<b>1.Macho vasectomizado</b>	<b>3.76a*</b>	<b>3.43a**</b>	<b>0.40a</b>
<b>2. Inducción con GnRH</b>	<b>6.47b</b>	<b>5.92b</b>	<b>0.72a</b>

**\*Valores con distinta letra son diferentes (P<0.05)**

**\*\* Valores con distinta letra son diferentes (P<0.01)**