



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

**SUPLEMENTO CON GERMINADOS DE TRIGO COMO BIOESTÍMULO
REPRODUCTIVO EN CONEJOS MACHOS**

MARIANELLA FALLAS LÓPEZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: **Suplemento con germinados de trigo a la dieta como bioestímulo en conejos reproductores machos**, realizada por la alumna: **Marianella Fallas López**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA**

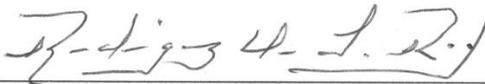
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO: _____



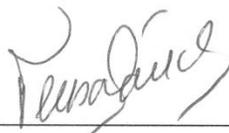
DR. JOSÉ RICARDO BARCENA GAMA

DIRECTOR DE TESIS: _____



DR. RAYMUNDO RODRÍGUEZ DE LARA

ASESOR: _____



DRA. TERESA SÁNCHEZ TORRES-ESQUEDA

ASESOR: _____



DR. DAVID HERNÁNDEZ SÁNCHEZ

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada doy gracias a Dios.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el apoyo económico otorgado para el desarrollo y conclusión de mis estudios de maestría.

Agradezco al Colegio de Posgraduados campus Montecillo por las facilidades otorgadas para realizar mis estudios de postgrado.

Agradezco a mi familia: Dr. Raymundo Rodríguez que además de esposo es mi director, amigo y guía, a mis amados hijos: Elizabeth por todo su sacrificio y trabajo, y Adrián por su apoyo. A los tres por su amor, apoyo incondicional y su infinita tolerancia. A mis papás y hermanos porque siempre creen e mi.

Al Dr. Ricardo Bárcena mi asesor de tesis por todo el apoyo.

Al Lic. Otilio Aguilar Romero y a su familia por el apoyo en todos los aspectos.

A mis consejeros por sus valiosas recomendaciones.

A mis compañeros en especial a mi amiga Melissa por todo el apoyo brindado.

A Centro de Investigación en Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) por proporcionarme la semilla para desarrollar la fase experimental.

Al Dr. Julio Huerta y al Sr. Carlos Márquez del INIFAP por su amabilidad y consejos.

A Juanita, Jackelin y Cristina por el apoyo en el trabajo de campo.

ÍNDICE

Página

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN	2
1.2. OBJETIVO	2
1.3. HIPÓTESIS	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Fisiología de la reproducción del macho	3
2.2. Composición del semen.....	3
2.3. Comportamiento reproductivo y manejo de los conejos	3
2.4. Factores que afectan el comportamiento reproductivo del conejo macho.....	4
2.4.1. Características individuales y genéticas	4
2.4.2. Estación	4
2.4.3. Estado sanitario	5
2.4.4. Manejo reproductivo	5
2.4.5. Alimentación	6
2.4.6. Edad.....	6
2.5. Uso del 6-methoxibenzoxazolinona (6-mboa)	6
2.5.1. ¿Qué es el 6- Metoxibexazolinona (6-MBOA)?.....	7
3. LITERATURA CITADA.....	10
4. CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS DE CONEJOS MACHOS SUPLEMENTADOS CON GERMINADOS DE TRIGO.....	16
4.1. RESUMEN	16
4.3. INTRODUCCIÓN	18
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.4.1 Localización	19
4.4.2. Tratamientos, animales y diseño experimental.....	20
4.4.3. Instalaciones y ambiente	20
4.4.4. Alimentación y nutrición	20
4.4.5. Producción de germinado de trigo	21
4.4.6. Colección de semen y evaluación	21
4.4.7. Variables de respuesta	22

4.4.8. Análisis estadístico	23
4.5. RESULTADOS	24
4.5.1. Animales que completan el experimento y análisis de varianza	24
4.5.2. Consumo de germinado de trigo, peso corporal y efectos de la covariable	24
4.5.3. Tiempo de reacción, semen y características espermáticas	24
4.6. DISCUSIÓN	27
4.7. CONCLUSIONES	32
4.8. LITERATURA CITADA	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

FIGURA 1. ESTRUCTURA DEL 6-MBOA Y LA MELATONINA.....	9
--	---

ÍNDICE DE CUADROS

Página

CUADRO 1. RESULTADOS DE LIBIDO, CALIDAD DE SEMEN Y CARACTERISTICAS ESPERMÁTICAS EN CONEJOS SUPLEMENTADOS CON GERMINADOS DE TRIGO Y TESTIGO, CON DOS EYACULADOS CONSECUTIVOS Y DOS ESTACIONES..... 25

CUADRO 2. CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN CONEJOS MACHOS CON GERMINADO Y SIN GERMINADOS Y EN DOS EYACULACIONES CONSECUTIVAS..... 26

CUADRO 3. CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ESPERMÁTICAS EN CONEJOS MACHOS EN OTOÑO E INVIERNO Y EN DOS EYACULACIONES CONSECUTIVAS.. 27

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de conejo en países en vías de desarrollo se ha incrementado notablemente en los últimos años y la proliferación de granjas comerciales es ya una realidad. Por esto, los cunicultores dedicados a esta actividad agropecuaria deben conocer y aplicar los avances tecnológicos que garanticen niveles de productividad altos y una buena rentabilidad. Para mejorar la productividad es preciso reducir al máximo los costos de producción y mejorar los beneficios, para lo cual se requiere de soluciones genéticas y de manejo (Rodríguez-De Lara, 2002).

La reproducción constituye uno de los aspectos más importantes que influyen sobre los niveles de productividad en granjas cunícolas. A lo largo del año se necesita buenos niveles de comportamiento sexual y alta calidad de semen para alcanzar el número máximo de dosis, no sólo para inseminación artificial (IA), sino también para monta natural. Sin embargo, el comportamiento reproductivo se reduce durante períodos estacionales desfavorables lo que puede comprometer la eficiencia de un programa reproductivo.

En granjas comerciales de conejos, la inseminación artificial ha sido empleada de manera extendida y su difusión ha contribuido a incrementar el conocimiento del metabolismo de los espermatozoides y el manejo del macho (Castellini, 2008). Se han logrado mejoras en el comportamiento reproductivo en conejos mediante el uso de tratamiento hormonales (Hsu *et al.*, 1987; El Gaafary, 1994; Rebollar *et al.*, 1998.). Sin embargo, se han elaborado investigaciones buscando alternativas naturales y de manejo con diferentes modos de acción, estrategias para incrementar el deseo sexual y la reproducción (Castellini y Battaglini, 1991; Cervera *et al.*, 1993; Mirabito *et al.*, 1994; Rebollar *et al.*, 1995; Boiti, 1998; Bonanno *et al.*, 1999a; Bonanno *et al.*, 1999b; Luzi *et al.*, 1999; Szendro *et al.*, 1999; Theau-Clément y Mercier, 1999; Rodríguez *et al.*, 2000; Theau-Clément, 2000).

La reproducción en conejos domésticos disminuye durante los meses de otoño e invierno tanto en hembras como en machos (Grobner *et al.*, 1987). Se ha demostrado, que la ingestión de germinados de gramíneas mejora el desarrollo gonadal en diferentes especies de *Microtus* en el

norte de América (Korn y Taitt, 1987; Schadler *et al.*, 1988; Nelson y Biota, 1993), en ratas (Buttersein *et al.*, 1985; Yuwiler y Winters, 1985; Butterstein y Schadler, 1988; Daya *et al.*, 1990) y en ratones (Nelson y Shiber, 1990).

En experimentos de campo y laboratorio se confirmó la existencia de un factor en las plantas inmaduras que incrementaba la fertilidad y el comienzo de la actividad reproductiva de los ratones; el compuesto se identificó como 6-metoxibenzoxazolinona (6-MBOA), que es producido por la planta como un factor de resistencia a insectos (Wahlroos y Virtanen, 1958).

1.1. JUSTIFICACIÓN

Se requieren estudios de estrategias naturales para mejorar el comportamiento sexual y la calidad de semen en conejos machos. Por lo que se realizará un experimento donde se utiliza germinado de trigo como suplemento de 6-MBOA para incrementar el potencial reproductivo y la eficiencia de un programa de inseminación artificial (IA), para reducir costos al mejorar la producción y mantenerla estable durante todo el año.

1.2. OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de suplementar con germinado de trigo como fuente biológica de 6-metoxibenzoxalinona en el tiempo de reacción a la monta y la calidad del semen en conejos durante verano, otoño e invierno.

1.3. HIPÓTESIS

El uso de suplementación con germinados de trigo y la estación mejora la libido y la calidad de semen en conejos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Fisiología de la reproducción del macho

La diferenciación sexual en los conejos inicia antes del nacimiento pero es entre los días 80 y 90 después del nacimiento que el conejo tiene completamente desarrollado el proceso de espermatogénesis (Alvariño, 1993). En general, la mejor edad para la primera cubrición en razas o líneas de talla medio (3.5 a 4.5 kg.) se sitúa en torno de los 5 a los 5.5 meses, no es conveniente sobrepasar, en los primeros dos meses de actividad de monta, las dos cubriciones por semana, entrando en plena producción espermática de los 7 a los 8 meses de edad, pudiendo mantener su actividad sexual hasta los 4 años, según la estirpe genética, condiciones ambientales y de manejo (Vicente y Viudes, 2000). En los conejos el proceso de espermatogénesis dura alrededor de 43.6 días (Monesi, 1982).

2.2. Composición del semen

El eyaculado del semen de conejos está compuesto de espermatozoides suspendidos en el plasma seminal, el cual es una sustancia que contiene un gran número de sustancias secretadas por el epidídimo y las glándulas accesorias (Alvariño, 2000). El volumen del semen puede variar entre 0.3 y 0.6 ml, el cual tiene una concentración espermática de 50 a 500 X 10⁶ ml⁻¹, y un pH de 6.8 a 8.4 (Battaglini *et al.*, 1992; Alvariño, 2000).

2.3. Comportamiento reproductivo y manejo de los conejos

En conejos, los estímulos ambientales tales como el fotoperiodo, la temperatura o la alimentación afectan a los animales por estrés. Otros factores propios del animal como el genotipo, la edad, el peso y la sanidad pueden modificar positiva o negativamente el comportamiento reproductivo (Amman y Lambiase, 1967; Alvariño, 2000; Theau-Clément, 2000; Castellini, 2008).

2.4. Factores que afectan el comportamiento reproductivo del conejo macho

Uno de los objetivos de los centros de inseminación artificial y las granjas comerciales es producir un gran número de dosis de semen con una buena fertilidad y a bajos costos. El ambiente, el manejo, la fisiología, los factores genéticos entre otros, afectan el proceso normal de espermatogénesis, la función espermática y la fertilidad del macho (García *et al.*, 2008; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008).

2.4.1. Características individuales y genéticas

Muchas de las características del semen tales como el volumen, la fracción del gel, la concentración espermática y fertilidad varían con la raza (Alvariño, 2000). Entre individuos también existen diferencias, así como por los efectos del genotipo, las cuales incurren directamente en las características del semen y la fertilidad (Theau-Clement *et al.*, 2003; Mocé *et al.*, 2005; Castellini, 2008).

2.4.2. Estación

Varios investigadores han encontrado que el volumen y la concentración espermática son menores en invierno que en el verano (Nizza *et al.*, 2003). La libido y la calidad de semen de conejos fueron menores en invierno que en primavera (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008) y las altas temperaturas de verano disminuyen el comportamiento reproductivo de los conejos machos (Bicudo y Paschoal, 1991; El-Masry *et al.*, 1994).

La espermatogénesis del conejo presenta variaciones estacionales debidas principalmente al fotoperíodo y a la temperatura. Las horas luz afectan al hipotálamo e hipófisis y por consecuencia a la liberación de hormonas y producción de espermatozoides. Se recomienda un programa de 16 horas luz: 8 horas de oscuridad (Theau-Clement *et al.*, 1994).

Nizza *et al.* (2000) demostraron que la concentración de espermatozoides disminuye, cuando las temperaturas oscilan entre 13 y 18° C, con respecto a 20 y 26° C. Con temperaturas mayores a los

30° C la cantidad y calidad del semen disminuyen, y esto se ve reflejado a los 42 días posteriores a la exposición a altas temperatura por la duración de la espermatogénesis (Mocé *et al.*, 2000a).

Algunos factores como la temperatura están estrechamente ligados con la humedad, la cual por sí sola no ha demostrado causar efectos negativos en la características espermáticas; sin embargo, altos niveles de humedad relativa (mayor a 85 %) junto con altas temperaturas afectan significativamente la calidad del semen (Finzi *et al.*, 2000; García *et al.*, 2008). Adicional a esto, existe una relación directa con altas temperaturas (arriba de 25° C) ya que disminuye considerablemente el consumo (Lavara *et al.*, 2000).

2.4.3. Estado sanitario

El manejo sanitario es de gran importancia. Se puede tener un programa de reproducción muy bueno pero si no se cuida este aspecto no se logra obtener los resultados deseados. Animales con llagas, sarna en las orejas, problemas respiratorios u otras enfermedades traen efectos negativos. Una alta concentración de leucocitos durante la espermatogénesis o después de la eyaculación, causada por una inflamación o una infección, puede reducir drásticamente la integridad del acrosoma por incrementar la producción de radicales libres (Castellini, 2008).

2.4.4. Manejo reproductivo

La frecuencia de colección en los machos afecta considerablemente la calidad del semen, se recomienda utilizar los machos una vez a la semana, máximo dos, obteniendo dos eyaculados por día de trabajo, con esto se logra mejora la calidad y cantidad de semen (Arriota *et al.*, 2000; Mocé *et al.*, 2000b; Castellini, 2008; Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008).

Rodríguez-De Lara *et al.* (2008) encontraron respuestas positivas tanto en la libido como en las características del semen ante el bioestímulo en machos por medio de la presencia de hembras por períodos de tiempo predeterminados en épocas críticas, como son los períodos de invierno y verano. Mejoras en la libido y en la calidad de semen han sido logradas en conejos mediante el uso de hormonas (Rebollar *et al.*, 1998).

2.4.5. Alimentación

La mala alimentación reduce la libido y algunos tratamientos seminales (Castellini, 2008). Las recomendaciones específicas para machos no están disponibles, solamente algunos requerimientos específicos se han establecido (De Blas y Wiseman, 1998).

Se recomiendan dietas de más de 15 % de proteína. Cuando se disminuye el porcentaje de proteína cruda en la dieta de los machos se afecta la concentración, el volumen del semen y la motilidad de los espermatozoides (Nizza *et al.*, 2000; Mocé *et al.*, 2000a; Castellini, 2008).

2.4.6. Edad

Como se mencionó anteriormente, la maduración sexual del conejo se da alrededor de los 5 meses y la calidad del semen disminuye en los animales viejos, esto conduce a que los animales se utilicen entre los 5 y 20 meses de edad para obtener resultados óptimos (Gogol *et al.*, 2002).

2.5. Uso del 6-methoxibenzoxazolinona (6-mboa)

Muchos animales silvestres son reproductores estacionales e inician su actividad reproductiva desde principios de primavera hasta finales del verano. Por ejemplo, a finales del verano las conejas entran en anestro cuando cesa el desarrollo folicular, mientras que, al mismo tiempo, los testículos de los conejos disminuyen de tamaño, ambas actividades llevan a una disminución en la actividad reproductiva. Un efecto estacional similar, pero no tan dramático, se ha reportado sobre la reproducción en conejos domésticos cuando disminuye la producción durante los meses de otoño e invierno (Grobner *et al.*, 1987).

En conejos silvestres europeos el intervalo entre los primeros brotes verdes de primavera y las primeras gestaciones es corto, alrededor de 7 días o menos (Poole, 1960). Negus y Berger (1977) observaron una correlación entre la actividad reproductiva del ratón de campo y el inicio del crecimiento de los recursos alimenticios vegetales.

Experimentos de campo y laboratorio confirmaron la existencia de un factor en las plantas inmaduras que incrementaba la fertilidad y el comienzo de la actividad reproductiva de los ratones; el compuesto se identificó como 6-metoxibenzoxazolinona (6-MBOA), que es producido por la planta como un factor de resistencia a insectos (Wahlroos y Virtanen, 1958).

Tang *et al.* (1975) encontraron que las plantas jóvenes de cereales, principalmente maíz, trigo, centeno y hojas inmaduras de una planta ornamental llamada lágrima de Job (*Coix lacryma jobi* L.) presentan mayores concentraciones de 6-MBOA.

2.5.1. ¿Qué es el 6- Metoxibexazolinona (6-MBOA)?

El consumo de pastos de gramíneas en crecimiento al inicio de la primavera demostró estimular la actividad reproductiva en conejos silvestres europeos (Poole, 1960) y ratones de campo (Pinter y Negus, 1965; Negus y Berger, 1977). La asociación entre el consumo de germinados en primavera y la estimulación reproductivas en ratones de campo dio como resultado el aislamiento de 6-methoxibenzoxazolinona (6-MBOA), compuesto fenólico no estrogénico (Berger *et al.*, 1981; Sanders *et al.*, 1981) que se encuentra en forraje tierno (Sanders *et al.*, 1981). El 2,4-dihidroxy-7-metoxi-2-H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-ona (DIMBOA), es el precursor del 6-MBOA, y se encuentra particularmente abundante como glucósido en plantas jóvenes de gramíneas. Cuando la planta sufre alguna alteración motivada por algún agente externo (de tipo infeccioso o algún predador) se presenta una rápida conversión del DIMBOA a 6-MBOA (Berger *et al.*, 1981). Por lo que, actúa como una defensa biológica natural contra el barrenador del maíz, bacterias, hongos u otros insectos (Wahlroos y Virtanen, 1958).

a

Los primeros estudios sobre 6- MBOA se realizaron para explicar la relación entre fotoperiodo, temperatura, nutrición y eficiencia reproductiva en animales silvestres, principalmente en el ratón de campo de Montana (*Microtus montanus*), por lo que se planteó la hipótesis de que el consumo de plantas herbáceas inmaduras por estos animales indicaba el comienzo de la reproducción en la época de disponibilidad de alimento. Pinter y Negus (1965) sugieren que las herbáceas en estado inmaduro, en la dieta de ciertos herbívoros pequeños, ejercen una profunda influencia sobre la

actividad reproductiva. Además, la estación de crecimiento, la maduración gradual y la eventual pérdida de humedad es paralela a un descenso del comportamiento reproductivo. La cantidad de forraje inmaduro y fresco está, aparentemente, ligada a la estimulación de las características reproductivas.

Se demostró, que la ingestión de germinados de gramíneas mejora el desarrollo gonadal en diferentes especies de *Microtus* en el norte de América (Korn y Taitt, 1987; Schadler *et al.*, 1988; Nelson y Biota, 1993), en ratas (Buttersein *et al.*, 1985; Yuwiler y Winters, 1985; Butterstein y Schadler, 1988; Daya *et al.*, 1990) y en ratones (Nelson y Shiber, 1990).

Los conejos domésticos se pueden reproducir a lo largo del año, siempre y cuando las condiciones medio ambientales sean favorables, pero se pueden observar patrones estacionales de reproducción tanto en machos como en hembras. La reproducción es máxima en primavera y mínima en verano y otoño (Hulot y Matheron, 1981). Por lo que la crianza durante estaciones desfavorables, pueden reducir su comportamiento reproductivo y los rendimientos en una unidad cunícola productiva.

El germinado de trigo contiene 6-MBOA (Epstein *et al.*, 1986) y cuando se proporciona a hembras de ciertas especies estacionales de días largos, durante el invierno estimularon el desarrollo ovárico y uterino independientemente del corto fotoperiodo y las bajas temperaturas (Negus y Berger, 1977; Epstein *et al.*, 1986; Korn y Taitt, 1987; Schadler *et al.*, 1988). Estudios en conejas, han demostrado que la suplementación con germinados de trigo como fuente de 6-MBOA durante 6 días antes de la inseminación artificial mejora las tasas de receptividad sexual y el tamaño de la camada al parto inclusive durante períodos críticos estacionales (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2007). Sin embargo, en machos de diferentes especies de roedores la administración de 6-MBOA no ha mostrado la misma respuesta que en las hembras (Korn y Taitt, 1987; Anderson *et al.*, 1988; Vaughan *et al.*, 1988).

Algunas investigaciones de la vía fisiológica del 6-MBOA en *Microtus m.* indican que el sitio de acción del 6-MBOA es alto en el nivel neuroendócrino (Sanders *et al.*, 1981); pero no hacen referencia al modo de actuar de dicho compuesto. Por lo que, aunque el mecanismo exacto de

acción del 6-MBOA no ha sido determinado, se dice que por la naturaleza de su estructura similar a la melatonina, puede ser que se interrelacionen (Figura 1).

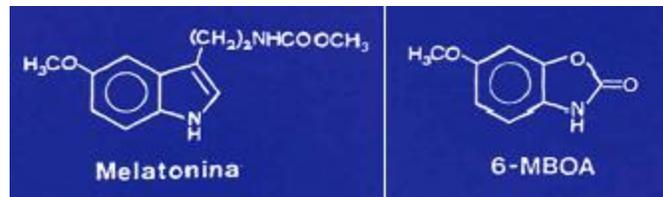


Figura 1. Estructura del 6-MBOA y de la melatonina (Grobner *et al.*, 1987)

Grobner *et al.* (1987) reportan este compuesto al mostrar un efecto en la estimulación reproductiva y su poder de acción, a través de uno de los tres mecanismos propuestos a continuación:

- I.** El 6-MBOA funciona como un antagonista a la melatonina, compitiendo por los sitios receptores, reduciendo con ello la respuesta de la melatonina;
- II.** El 6-MBOA pudiera actuar como un retroalimentador negativo para que la melatonina no exhiba sus propiedades antigonadotrópicas; y
- III.** El 6-MBOA es una agonista de la melatonina, y pudiera actuar conjuntamente con ella, ya que se ha reportado que en la exposición prolongada de conejos a la melatonina estos eliminaron la respuesta inhibitoria.

No existen investigaciones de la influencia de la suplementación con germinados de trigo como fuente biológica de 6-MBOA en la reproducción de conejos machos y aún se desconoce la respuesta que se tendría en estaciones reproductivas desfavorables.

3. LITERATURA CITADA

- Alvariño, J. M. R. 1993. Control de la reproducción en el conejo. Edit. MAPA-Mundiprensa, España, Madrid. pp 21-31.
- Alvariño, M. R. 2000. Reproductive performance of male rabbit. In Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España. Vol. A., 13-35.
- Amman, R.P. and J.T. Lambiase, 1967. The male rabbit. I. Changes in semen characteristic and sperm output between puberty and one year of age. J. Reprod. Fert. 14: 329-332.
- Anderson, K. D., R. J. Nachman, and F. W. Turek. 1988. Effects of melatonin and 6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA) on photoperiodic control of testis in adult male golden hamsters. J. Pineal Res. 5 (4): 351-365.
- Arriota, Z., M. V. Falceto, R. S. Martín, C. De Alba, C. Moreno, M. J. Ciudad and O. Rafel. 2000. Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. In Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España. Vol. A., 81-87.
- Battaglini, M., C. Castellini and P. Lattaioli. 1992. Variability of main characteristics of rabbit semen. J. Appl. Rabbits Res. 15:439-446.
- Berger, P. J., N. C. Negus, E.H. Sanders and P. D. Gardner. 1981. Chemical triggering of reproduction in *Microtus montanus*. Science. 214: 69-70.
- Bicudo, S. D. and J. P. S. Paschoal. 1991. Some rabbit semen traits in spring and early summer. In: Congresso Brasileiro de Reprodução animal. 9 (2): 457-459.
- Boiti, C. 1998. Internacional collaboration in rabbit reproduction research: presentation of the IRRG group. World Rabbit Science. 6 (1): 175-178.
- Bonanno, A, M. Alabiso, A. Di Grioli, and M.L. Alicata. 1999a. Effect of change of cage and/or mother-litter separation on productivity of non-receptive lactating rabbit does. Preliminary investigations. *World Rabbit Science*. 7 (2): 107-111.
- Bonanno, A, M. Alabiso, A. Di Grioli, and M. L. Alicata. 1999b. Effect of a 48h delayed insemination with or without a 48h doe-litter separation on performance of non-receptive does. *World Rabbit Science*. 7 (3): 171-175.
- Butterstein, G. M., M.H. Shadler, E. Lysogorski, L. Robin and S. Sipperly. 1985. A naturally occurring plant compound, 6-Methoxybenzoxazolinone stimulates reproductive responses in rats. Biol. Reprod. 32: 1018-1023.

- Butterstein, G.M. and M.H. Schadler. 1988. The plant metabolite 6-methoxybenzoxazolinone interacts with follicle-stimulating hormone to enhance ovarian growth. *Biol. Reprod.* 39 (2): 465-471.
- Castellini, C. and M. Battaglini. 1991: Influenza della concentrazione energetica della razione e del ritmo riproduttivo sulle performance delle coniglie. *Atti. IX Congr. Naz. Aspa.* 477-488.
- Castellini, C. 2008. Semen production and management of rabbit bucks. In *Procc. 9th World Rabbit Congress.* Verone, Italy. pp. 81-96.
- Cervera, C., J. Fernandez-Carmona, P. Viudes de Castro, and E. Blas. 1993: Effect of remating interval and diet on the performance of female rabbits and their litter. *Animal Production.* 56: 399-405
- Daya, S., B. Pangerl, M.E. Troiani and R.J. Reiter. 1990. Effect of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the activity of rat pineal n-acetyltransferase and hydroxyindole-0-methyltransferase and on melatonin production. *J. Pineal Res.* 8: 57-66.
- De Blas, C. and J. Wiseman. 1998. *The nutrition of the rabbit.* CAB Int., Wallingford, 1998.
- El-Gaafary, M.N., 1994. The effects of gonadotropin releasing hormone on reproductive performance of low fertile male rabbits. In Baselga M. (ed.), Marai I.F.M. (ed.). *Rabbit production in hot climates.* Zaragoza: CIHEAM-IAMZ. 1 International Conference of rabbit production in hot climates, Cairo (Egypt). 313-320.
- El Masry K.A., A.S. Nasr, and T.H. Kamal. 1994. Influences of season and dietary supplementation with selenium and vitamin e or Zinc on some blood constituents and semen quality of New Zealand White rabbit males. *World Rab. Sci.* (1) 2: 79-86.
- Epstein, W.W., C.N. Rowsemmit, P.J. Berger and N.C. Negus. 1986. Dynamics of 6-Methoxybenzoxazolinone in whiter wheat. *J. Chem. Ecol.* 12: 2011-20020.
- Finzi, A., A. Daader, K. Llanan, A. Soliman and A. Askar. 2000. Influence of chronic high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. In *Procc. 7th World Rabbit Congress,* Valencia, España.
- García, T. M., Ll. Tusell, B. M. López, J. Ramón, O. Rafel and M. Piles. 2008. Influence of environmental temperature and relative humidity on quantitative and qualitative semen traits of rabbits. In *Procc. 9th World Rabbit Congress.* Verone, Italy. pp. 111.

- Gogol, P., M. Bochenek, and Z. Smora. 2002. Effect of rabbit age on sperm chromatin structure. *Reprod. Dom. Anim.* 3: 92-95.
- Grobner, M.A. P.R. Cheeke, N.M. Patton and R.J. Nachman. 1987. The effect of 6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA) on ovarian and uterine weights in non-parous rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.* 3: 222-226.
- Hsu, H., J. Hsu, S. Zhou, Q. Weng, and Y. Wang. 1987. The effect of gonadotrophin releasing hormone on reproductive performance of male rabbits. *Journal of Applied Rabbit Research.* 10: 10-11.
- Hulot, F. and G. Matheron. 1981. Effects de genotype de l'age et de la saison sur Les composantes de la reproduction chez lapine. *Ann, Genet. SEl. Anim.* 13: 131-138.
- Korn, H., and M. J. Taitt. 1987. Initiation of early breeding in a population of *Microtus townsendii* (rodentia) with the secondary plant compound 6-MBOA. *Oecology.* 71: 593-596.
- Lavara, R., E. Mocé, E. Andreu, J.J. Pascual, C. Cervera, M. P. Viudes de Castro and J.S. Vicente. 2000. Effects of environmental temperature and vitamin supplements on seminal parameters from a rabbit line selected by high growth rate. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España.* Vol. A., 167-171.
- Luzi, F., S. Barbieri, C. Lazzaroni, C. Cavani, M. Zecchini, and C. Crimella. 1999. Amélioration des performances reproductives chez la lapine par "flushing" alimentaire. *50th E.A.A.P Meeting, Zurich. August, 1-4.* 22-26.
- Mirabito, L., P. Galliot, and C. Souchet. 1994. Effet de l'utilisation de la PMSG et de la modification de la photopériode sur les performances de reproduction de la lapine. *6^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle, I:* 169-178.
- Mocé, E., M. Aroca, R. Lavara and J.J. Pascual. 2000a. Effect of dietary zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during summer season. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España.* Vol. A., 203-209.
- Mocé, E., R. Lavara and J. S. Vicente. 2000b. Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España.* Vol. A., 197-201.
- Mocé, E., J. S. Vicente, R. Lavara, M.P. Viudes De Castro, M. Lopez, and G. Bolet. 2005. Characteristics of fresh semen from eight rabbit breeds. *Reprod. Domest. Anim.,* 40: 388-398.

- Monesi, V. 1982. Espermatogénesis y espermatozoides. En: Austin CR, Short RV, editores. Células Germinales y Fertilización. Primera Edición. México: Ediciones Copilco. 49-88.
- Negus, N.C. and P.J. Berger. 1977. Experimental triggering of reproduction in a natural population of *Microtus montanus*. *Science* 196: 1230-1231.
- Nelson, R. J. and J.M.C. Biota. 1993. 6-Methoxy-benzoxazolinone and photoperiod: prenatal and postnatal influences on reproductive development in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Can. J. Zool.* 71: 776-789.
- Nelson, R. and J.R. Shiber. 1990. Photoperiod affects reproductive responsiveness to 6-methoxy-2-benzoxazolinone in house mice. *Biol. Reprod.* 43: 586-591
- Nizza, A., C. Di Meo and S. Taranto. 2000. Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España.* Vol. A. 217-223.
- Nizza, A., C. Di. Meo, and Taranto. 2003. Effect of collection rhythms and season on rabbit semen characteristics bucks. *Reprod. Domest. Anim.* 38: 436-439.
- Pinter, A.J. and M. Negus. 1965. Effects of nutrition and photoperiod on reproduction physiology of *Microtus montanus*. *Am. J. Physiol.* 208: 633-638.
- Poole, W.E. 1960. Breeding of the wild Rabbit in relation to environment. *CSIRO Wild Res.* 5: 21-43.
- Rebollar, P. G., Alvariño, J. M. R., J. A. Del Arco, y A. Bueno. 1995: Control de celo en conejas nulíparas: manejo y tratamiento con PMSG. *Inf. Tech. Eco. Agr.* (16) I: 455-457.
- Rebollar, P. G., E. Ubilla, J.M. R. Alvariño, P. L. Lorenzo, G. Silván, and J.C. Illera. 1998. Effect of HCG or gonadoreline on seminal parameters and plasma testosterone levels in young male rabbits. *J. Physiol. Biochem.*, 54 (3): 161-168.
- Rodríguez-De Lara, R, L. M. Fallas, and S. R. Rangel. 2000. Influence of body live weight and relocation on kindling rate and prolificacy in artificial inseminated nulliparous doe rabbits. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España.* Vol. A., 251-256.

- Rodríguez-De Lara, R. 2002. Control de la reproducción en la coneja. 2° Congreso de Cunicultura de las Américas. La Habana, Cuba. pp. 247-258.
- Rodríguez De Lara, R., C.A. Herrera, M. Fallas, R. Rangel, V. Mariscal, P. A. Martínez and J. García. 2007. Influence of supplementary dietary sprouted whet on reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 99: 145-155.
- Rodríguez-De Lara R, L. M. Fallas, S. R. Rangel, A. V. Mariscal, H. P.A. Martínez, and M. J.G. García. 2008. Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. 9th World Rabbit Congress. Verone, Italy. *Reproduction*. 443-447.
- Sanders, E. H., P. D. Gardner, P. J. Berger and N. C. Negus. 1981. 6-Methoxibenzoxazolinone: A plant derivative that stimulates reproduction in *Microtus montanus*. *Science*. 214: 67-69.
- Schadler, M. H., B. J. Butterstein, B. J. Faulkner, S. C. Rice and L. A. Weisinger. 1988. The plant metabolite, 6-methoxibenzoxazolinone, stimulates an increase in secretion of follicle-stimulating hormone and size of reproductive organs in *Microtus pinetorum*. *Biol. Reprod.* 38: 817-820.
- Szendrö Zs., Zs. Jovanczai, M. Theau-Clément, I. Radnai, E. Biro-Nemeth, and G. Milisits 1999: The effect of doe-litter separation on production performance in rabbit does and their kits. *World Rabbit Science*. 7 (3): 165-169.
- Tang, Ch., S.H. Chang, D. Hoo and K.L. Yanagihara. 1975. Gas chromatographic determination of 2 (3)-benzoxazolinone from cereal plants. *Phytochemistry*. 14: 2077-2079.
- Theu-Clément, M., N. Michel, B. Poujardieu, G. Bolet, and J. Esparbie. 1994. Influence de la photoperiode sur l'ardeur sexuelle et al production de semence chez le lapin. VIemes Journees de la Recherche Cunicole, La Rochelle, France. 1: 179-186.
- Theau-Clement, M., and P. Mercier. 1999. Effect of a 24 hour doe-litter separation on rabbit doe reproductive performance and growth of the young. *World Rabbit Sci.* 7: 177-179.
- Theau- Clement, M. 2000. Advances in biosimulation methods applied to rabbit reproduction. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, Valencia, España. Vol. A.* 61-79.

- Theau-Clément M., J.M. Brun, E. Sabbioni, C. Castellini, T. Renieri, U. Besenfelder, J. Falières, J. Esparbié, and G. Saleil. 2003. Comparison de la production spermatique de trois souches de lapins: moyennes et variabilités. *In Proc. 10èmes Journées Recherche Cunicole, November 2003, Paris, France.* 81-84.
- Vaughan, M. K., J.C. Little, D.C. Powell, M. Puig-Domingo and R. J. Reiter. 1988. Hormonal consequences of subcutaneous 6-methoxy-2-benzoxazolinone pellets or injections in prepubertal male and female rats. *J. Reprod. Fert.* 83: 859-866.
- Vicente, J. S y M. P. Viudes-de-Castro. 2000. Manejo reproductivo en el conejo. <http://home.utad.pt/apez/APEZNorte/2000/Cunicultura/S4.htm>. Agosto, 2008.
- Wahlroos, O. and A. I. Virtanen. 1958. On the antifungal effect of benzazolinone and 6-methoxybenzazolinone, respectively on *Fusarium nivale*. *Acta Chem. Scand.* 12: 124-128.
- Yuwiler, A., W.D. Winters. 1985. Effects of 6-methoxy2-benzoxazolinone on the pineal melatonin generating system. *Am. Soc. Exp. Therap.* 233: 45-50.

4. CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS DE CONEJOS MACHOS SUPLEMENTADOS CON GERMINADOS DE TRIGO

4.1. RESUMEN

Los germinados de trigo contienen un compuesto fenólico 6-methoxy-2-benzoxazolinone (6-MBOA) que estimula la reproducción en ciertas especies pequeñas de mamíferos herbívoros, pero esto no se ha demostrado en machos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de suplementar, por periodos cortos, con germinados de trigo en la libido y calidad del semen de conejos. Se colocaron machos Nueva Zelanda Blanco puberales de cinco meses de edad ($n = 18$) en dos grupos similares de acuerdo a sus pesos y asignados completamente al azar a uno de dos tratamientos experimentales: (1) Dieta peletizada comercial únicamente o testigo; (2) dieta peletizada comercial más germinados de trigo ($300\text{g animal}^{-1} \text{d}^{-1}$). El diseño experimental fue completamente al azar con nueve repeticiones, la unidad experimental fue cada conejo. El suplemento fue proporcionado durante 4 días antes de la colección de semen. La colección de semen para cada macho se realizó una vez por semana con dos eyaculados en cada sesión. Los eyaculados fueron colectados durante 20 semanas (finales de otoño e inicios de invierno). El análisis de varianza fue bajo un modelo mixto en donde los efectos fijos fueron el tratamiento, el número del eyaculado y la estación; el efecto aleatorio fue el conejo; y la covariable el peso del conejo a cada colección. El consumo promedio diario de germinado en base fresca fue 220 ± 3.4 y en base seca de 43 ± 0.66 g. No se encontraron efectos ($P > 0.05$) de tratamiento en el tiempo de reacción, la presencia de gel, volumen, pH, motilidad, concentración espermática por eyaculado, porcentaje de espermatozoides muertos normales y anormales, y el porcentaje de acrosoma normal y anormal. El porcentaje de espermatozoides vivos normales fue más alto ($P = 0.01$) en los conejos con suplemento que en el grupo testigo ($>13.5\%$) y el porcentaje de espermatozoides vivos anormales fue mayor ($P = 0.02$) en los testigos que en los suplementados ($>44.1\%$). La proporción de presencia de gel y volumen seminal en el primer eyaculado fue mayor ($P = 0.0001$) que en el segundo eyaculado ($>140\%$ y $>56.4\%$). Sin embargo, la calidad del semen de segundo eyaculado fue mejor ($P = 0.0001$) que el primero en términos de incremento en la motilidad ($>29.7\%$). La interacción tratamiento por número de eyaculado fue significativa ($P < 0.001$) para la motilidad, en el caso del primer eyaculado la motilidad tendió a ser mayor ($P = 0.19$; $>15\%$) en conejos suplementados con germinado de trigo que en los conejos testigo

mientras que para el segundo eyaculado los valores para conejos suplementados fueron inferiores (<6.4%) que los testigo pero las diferencias no fueron significativas ($P > 0.05$). El potencial reproductivo en invierno fue mayor ($P < 0.05$) que en otoño. Usar germinados de trigo como suplemento mejora la viabilidad y reduce las anomalías de los espermatozoides de los conejos en otoño e invierno.

Palabras clave: Conejos, 6-methoxy-2-benzoxazolinone; orden de eyaculado; estación; semen

4.2.ABSTRACT

The sprouted wheat contains a phenol compound 6-methoxy-2-benzoxazolinone (6-MBOA) that stimulates reproduction in certain small wild herbivorous mammals but the commitment in males has not been elucidated. The objective of the present study was to evaluate the effect of short-term supplemental dietary sprouted wheat on libido and semen quality of buck rabbits. Five months old New Zealand White pubertal male rabbits ($n=18$) were arranged in two groups of similar body weights and randomly allocated to one of two treatments: (1) pellet diet or control; (2) pellet diet plus sprouted wheat. Experimental design was completely random with nine replications, experimental unit was one buck. The sprouted wheat was given during 4 days before semen collection. Semen collection for each male was carried out once a week with two ejaculations. The ejaculates were collected during 20 weeks (early autumn and late winter) once a week with two ejaculates at each collection. Analysis of variance was under a mixed model: treatments, ejaculate number and season were fixed and rabbit random effect and buck weight at each collection as covariable. Mean daily intake of sprouted wheat on wet and dry matter bases were 220 ± 3.4 and 43 ± 0.66 g, respectively. There were no effects ($P > 0.05$) of treatment on reaction time, presences of gel, volume, pH, motility, sperm concentration per ejaculate, percentage of normal and abnormal dead spermatozoa and percentage with normal or abnormal acrosome. The percentage of live normal spermatozoa was higher ($P = 0.01$) in supplemented males as compared with the control group (>13.5%) and the percentage of abnormal alive spermatozoa was greater ($P = 0.02$) in the latest than the former (+44.1%). The proportion of presence of gel and semen volume in the first ejaculate was higher than the second ejaculate (>140% and >56.4%). However, the semen quality in the latest was better ($P = 0.0001$) than the

former in terms of an increase in motility (>29.7%). The interaction treatment x number of ejaculate was significant ($P < 0.0001$) for sperm motility, in the case of the first ejaculate the motility tended to be higher ($P = 0.19$; >15%) in rabbits with sprouted wheat than the controls whereas for the second ejaculate values for supplemented males were lower (<6.4%) than the control but the differences were no significant ($P > 0.05$). The reproductive potential was higher ($P < 0.05$) in winter than autumn. Dietary sprout wheat enhances the viability and reduces sperm abnormalities in male rabbits in autumn and winter.

Key words: Rabbits, 6-methoxy-2-benzoxazolinone; number of ejaculation; season; semen.

4.3. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es una herramienta útil en los sistemas de producción cunícola para mejorar la eficiencia y disminuir los costos. Sin embargo, para obtener beneficios, bajo este programa, se requiere un óptimo manejo sexual y una buena calidad de semen a lo largo del año. Los esfuerzos para mejorar la reproducción se ha logrado mediante la utilización de hormonas (Rebollar *et al.*, 1998), control de luminosidad (Theau Clement *et al.*, 1995), incrementos en los niveles nutricionales (Nizza *et al.*, 2000), y la exposición a las hembras (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2008). No obstante, se deben investigar otras alternativas para mejorar la libido y el comportamiento reproductivo en machos en centros de IA para conejos.

Algunos estudios han demostrado que el consumo de germinados de gramíneas al inicio de la primavera estimula la actividad reproductiva en conejos silvestres europeos (Poole, 1960) y mejora el desarrollo gonadal en diferentes especies de *Microtus* en el norte de América (Nelson y Biota, 1993). Este efecto estimulador ha sido relacionado con la presencia de un derivado fenólico no estrogénico presente en germinados de gramíneas el 6-methoxy-2-benzoxazolinone (6-MBOA) (Sanders *et al.*, 1981). Este compuesto actúa como una defensa química ante bacterias, hongos y otros insectos (Epstein *et al.*, 1986; Butterstein y Schadler, 1988). La respuesta reproductiva de los animales al 6-MBOA se comparó directamente suplementando el extracto de la hierba fresca y en experimentos de laboratorio con el extracto crudo (Pinter y Negus, 1965). A diferencia de otras gramíneas, los germinados de trigo (*Triticum aestivum*)

contienen una gran concentración de 6-MBOA: $40\mu\text{g g}^{-1}$ en hojas en base a materia seca (Epstein *et al.*, 1986) y ha demostrado estimular la actividad reproductiva en ratones de campo (Schadler *et al.*, 1988). Estudios demostraron que el 6-MBOA ejerce un fuerte efecto estimulador sobre la reproducción en hembras y machos de *Microtus montanus* (Berger *et al.*, 1981; Sanders *et al.*, 1981; Schadler *et al.*, 1988). La administración de tratamiento con 6-MBOA en poblaciones silvestres de ratones de campo durante el periodo no reproductivo de invierno duplicando el tamaño corporal durante los primeros 21 días e incrementando la tasa de concepción de 0 a 60%. Sin embargo, no se ha mencionado la función del 6-MBOA en la reproducción en machos (Sanders *et al.*, 1981). En conejas, la suplementación de germinados de trigo como fuente de 6-MBOA por 6 días antes de la IA mejoró la receptividad sexual y el tamaño de camada al parto (Rodríguez-De Lara *et al.*, 2007). De hecho, la mayoría de los estudios sobre el uso del 6-MBOA y la fisiología de la reproducción en pequeños mamíferos herbívoros se ha centrado en hembras y poco se ha investigado en machos (Anderson *et al.*, 1988; Schadler *et al.*, 1988; Vaughan *et al.*, 1988). En el caso de conejos domésticos no existen estudios sobre los efectos de la inclusión de germinados de trigo en la dieta como fuente potencial de 6-MBOA en el comportamiento reproductivo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de suplementar con germinados de trigo por 4 días antes de la colección de semen sobre la libido y la calidad de semen en conejos machos jóvenes manejados bajo un ritmo extensivo de reproducción en otoño e invierno.

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1 Localización

El experimento se realizó en las instalaciones de “Conejos Centro de Investigación Científica del Estado de México A. C.”, localizado en San Miguel Coatlinchan, Texcoco, México a $19^{\circ} 27' \text{ N}$, $98^{\circ} 53' \text{ O}$ y 2220 m sobre el nivel del mar. La temperatura media anual es de 15° C y 645 mm de lluvia anuales.

4.4.2. Tratamientos, animales y diseño experimental

Se colocaron machos Nueva Zelanda Blanco puberales de cinco meses de edad (n=18) en dos grupos similares de acuerdo a sus pesos y se asignaron completamente al azar a las unidades experimentales: (1) dieta peletizada únicamente o testigo (2). Dieta peletizada más germinados de trigo como suplemento (300 g animal⁻¹ d⁻¹ en base materia fresca). La primera colecta de semen se realizó cuando los conejos tenían el 75 % de su peso adulto (3826±153.8 y 3827±166.1 g, para cada tratamiento respectivamente). El suplemento fue proporcionado durante 4 días antes de la colección de semen. Los machos fueron sometidos a un ritmo extensivo de reproducción al realizarse la colección de semen una vez por semana. En una sesión a cada macho se le colectaron dos eyaculados. El experimento tuvo una duración de 20 semanas: 10 en otoño (de la segunda semana de octubre a la tercera semana de diciembre) y 10 semanas en invierno (de la cuarta semana de Diciembre a la cuarta semana de Febrero). El diseño experimental fue completamente al azar con dos tratamientos y 9 repeticiones considerando cada macho como unidad experimental.

4.4.3. Instalaciones y ambiente

Los conejos se mantuvieron en una galera con ventilación natural provista con aislamiento térmico, y se alojaron en jaulas individuales de 54 x 60 x 40 cm dispuestas en flat-deck (horizontal), con bebederos automáticos y comedero tipo Inglés. Los conejos se mantuvieron bajo un régimen de luz natural.

4.4.4. Alimentación y nutrición

El alimento ofrecido fue una dieta comercial peletizada con 93 % de MS, 16.7 % proteína cruda (PC), 3.8 % extracto etéreo (EE), 16.7 % fibra cruda (FC), 24.7 % fibra detergente ácido (FDA), 10.3 % cenizas, 53.3 % extracto libre de nitrógeno (ELN), 2.3 Mcal de ED⁻¹, 1.0 % Ca y 0.6 % P. Los conejos recibieron 200 g de alimento por día. El consumo voluntario de alimento se determinó diariamente.

El germinado secado por dos días fue cortado en cuadros de aproximadamente 60 mm² y colgado a 20 cm por arriba del piso de la jaula de los conejos. Diariamente, entre las 9:00 y 10:00 h se pesaba y eliminaba germinado rechazado y se ofrecía una ración nueva y fresca. La composición con base a materia seca del germinado de trigo ofrecido fue 26.5 % PC, 3.8 % EE, 16.9 % FC, 24.8 % FDA, 4.5 % cenizas, 40.9 ELN., 0.5 % Ca y 0.7 % P.

Cuatro días antes de la colección de semen a los conejos del tratamiento 2 se les proporcionó aproximadamente 300 g de germinado en fresco equivalente a 153 g de MS por día adicionado a la dieta peletizada.

4.4.5. Producción de germinado de trigo

Semillas de trigo (*Triticum aestivum*) con un 85 % de tasa de germinación fueron cultivadas dentro de un local ventilado naturalmente mediante el siguiente método: semillas libres de pesticidas fueron lavadas con agua y después sumergidas por 24 horas en agua adicionada con una solución de hipoclorito de sodio (10 ml l⁻¹ de agua) para prevenir algas y hongos. Las semillas se colocaron en bandejas de germinación de plástico a una densidad de 3.5 kg m⁻², regada dos veces al día y mantenidas con luz natural. También se utilizó hipoclorito de sodio para desinfectar las superficies. Los germinados fueron removidos 10 días después de la siembra y puesto a secar por 2 días, después se les ofreció a los conejos. El secado se logró al poner los germinados arriba de jaulas de conejos vacías que permitían el flujo libre de aire. El porcentaje de materia seca del germinado después de secarlo fue de 51 %. Se tomaron dos muestras de germinados a lo largo del experimento. Las muestras se secaron en una estufa de aire forzado a 55° C y almacenadas para ser analizadas posteriormente en el laboratorio.

4.4.6. Colección de semen y evaluación

La colección de semen fue realizada una vez por semana (los viernes), a cada macho se le obtuvo dos eyaculados consecutivos. La primera eyaculación se realizó entre las 8:00 y 10:00 h, el segundo eyaculado alrededor de los 5 minutos después del primer eyaculado colectado. Para la colección del semen se utilizó una vagina artificial tipo Inglés y con la ayuda de una coneja de

apoyo de acuerdo a la metodología descrita por Rodríguez-De Lara *et al.* (2007). El semen colectado en un tubo graduado fue mantenido en un baño maría a 31° C para su evaluación.

4.4.7. Variables de respuesta

Al inicio de cada colección de semen se pesaron los conejos. Se registró el tiempo de reacción definido como el intervalo de tiempo desde la introducción de la coneja de apoyo a la jaula del macho hasta la eyaculación; éste fue medido en segundos con un cronómetro y fue considerado como un indicativo de la libido. Las determinaciones en el semen fueron: presencia de gel, volumen de eyaculado y pH. Las medidas espermáticas fueron: motilidad, concentración por eyaculado, vivos normales, vivos anormales, muertos normales, muertos anormales, acrosoma normal y acrosoma anormal. Se midió la presencia de gel, el cual se retiró inmediatamente, después se midió el volumen directamente en un tubo colector graduado a intervalos de 0.2 ml. El pH del semen fue determinado inmediatamente después de la colección usando un papel pH cooperativo (Dual Tint). La motilidad espermática fue determinada al colocar una gota de semen fresco en un portaobjeto temperado a 37°C utilizando un microscopio a 10x y evaluado de 0 a 100 %. La concentración espermática por mililitro fue calculada al contar el número de espermatozoides en ambos lados de una cámara de Neubauer mejorado (Marienfeld, Alemania) en semen diluido (1:99 en formalina) y multiplicada por un factor de dilución. El número de espermatozoides por eyaculado fue determinado al multiplicar el volumen por la concentración espermática por mililitro. Los atributos de viabilidad y morfología fueron medidos al teñir una alícuota de cada eyaculado con eosina/negrosina y contando 200 células espermáticas a 40x. Las células fueron identificadas como vivas o muertas y clasificadas ya sea como normales o presentando defectos en cabezas y colas. Los acrosomas normales y anormales se identificaron al teñir un alícuota del eyaculado. Para este fin, dos gotas de semen fueron colocadas en un portaobjetos y se preparó un frotis. Una vez seca la muestra se le agregó Rojo Congo por dos minutos y después se lavó con agua destilada a chorro moderado por un minuto. Posteriormente se le adicionó Azul Victoria por 3 minutos y se lavó con agua destilada por otro minuto. El portaobjeto con la muestra fue secado al aire y almacenado para su evaluación. Para su determinación se contaron 20 células a 100x bajo aceite de inmersión.

4.4.8. Análisis estadístico

Todas las variables estudiadas fueron sometidas a un análisis de varianza bajo los siguientes modelos lineales mixtos:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + O_j + E_k + M_l + T*O_{ij} + T*E_{ik} + O*E_{jk} + b_l (X_{ijklm} - X) + e_{ijklm}.$$

Donde: μ es la media general; T_i es el efecto mixto del i-ésimo tratamiento (i=con o sin germinado de trigo); O_j es el efecto fijo del j-ésimo orden de eyaculado (j=primero, segundo); E_k es el efecto mixto de la k-ésima estación de colección de semen (k=otoño, invierno); M_l es el efecto aleatorio del macho ($l = 1, \dots, 16$), (dos machos fueron descartados del análisis) $\sim NI(0, \sigma_m^2)$; $T*O_{ij}$, $(T*E)_{ik}$, y $O*E_{jk}$ son los efectos mixtos que corresponden al primer orden de interacciones; b_l es el coeficiente de regresión del efecto lineal de la covariable peso vivo del macho al momento de la colección de semen (X); y e_{ijklm} es el residual $\sim NI(0, \sigma_e^2)$.

El análisis de varianza fue realizado con datos originales y transformados, las variables expresadas en porcentaje fueron transformadas a arco seno. El tiempo de reacción y la concentración por eyaculado se transformó a log10 y el pH del semen fue transformado a raíz cuadrada. Cualquier interacción no significativa ($p > 0.05$) fue removida del modelo final.

Las medias de los efectos principales y de las interacciones de primer orden fueron calculadas por medio de mínimos cuadrados. Los cálculos estadísticos se hicieron con el programa SAS (SAS, 2004). PROC MIXED y LSMEANS. El coeficiente de regresión para los efectos lineales del peso del macho y el tiempo de reacción se obtuvo especificando SOLUTION al final del modelo.

4.5. RESULTADOS

4.5.1. Animales que completan el experimento y análisis de varianza

Los registros de dos conejos (uno de cada tratamiento) se eliminaron de los análisis debido a problemas sanitarios. Todos los machos supervivientes se diagnosticaron clínicamente sanos durante todo el estudio. Tres eyaculados de los machos testigo y seis de los suplementados con germinado de trigo estaban vacíos: de los seis tres fueron del primer eyaculado y tres del segundo. El análisis de varianza mostró la misma respuesta tanto con los datos originales que cuando se transformaron, por lo que se presenta el análisis de varianza se presenta con los datos originales

4.5.2. Consumo de germinado de trigo, peso corporal y efectos de la covariable

El consumo de la dieta comercial peletizada en base seca para los tratamientos sin y con germinados fue de 136.1 ± 1.9 y 95.4 ± 1.9 g animal⁻¹ d⁻¹, respectivamente. El consumo de germinado en fresco y seco fue de 220 ± 3.4 y 43 ± 0.66 g animal⁻¹ d⁻¹, respectivamente. Por lo que el consumo voluntario promedio de los conejos en base seca fue de 136.1 y 138.4 g animal⁻¹ d⁻¹ para los dos tratamientos. Los conejos suplementados con germinados mostraron a lo largo del experimento pesos significativamente ($P = 0.0001$) mayores que aquellos del grupo testigo (3963.5 ± 17.6 y 3874.9 ± 17.6 g). No obstante, no se encontraron efectos ($P > 0.05$) lineales de los pesos de los conejos al momento de la colección de semen para ninguna de las variables analizadas por lo que esta covariable fue eliminada del modelo final.

4.5.3. Tiempo de reacción, semen y características espermáticas

Los efectos de tratamiento, número de eyaculado y estación sobre la libido y calidad de semen se muestran en el Cuadro 1. No se encontraron efectos ($P > 0.05$) de tratamiento en el tiempo de reacción, las variables seminales y en el porcentaje de motilidad. Se encontró una tendencia ($P =$

0.09) de los conejos del grupo testigo a producir mayor cantidad de espermatozoides por eyaculado, que aquellos suplementados con germinados de trigo (>21.8%). Sin embargo, el porcentaje de espermatozoides vivos normales fue significativamente ($P = 0.02$) más alto en los conejos suplementados que los testigo (>13.5%). Además, los conejos sin suplemento presentaron un porcentaje mayor ($P = 0.01$) de espermatozoides vivos anormales (>44.1%). No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre tratamientos en las variables porcentaje de espermatozoides muertos normales, muertos anormales, acrosomas normales y acrosomas anormales.

Cuadro 1. Resultados de libido, calidad de semen y características espermáticas en conejos suplementados con germinados de trigo y testigo, con dos eyaculados consecutivos y dos estaciones.

Variable	Efecto								
	Germinado		EED ¹	Eyaculado		EED ¹	Estación		EED ¹
	Sin	Con		1°	2°		Otoño	Invierno	
Tiempo de reacción (segundos)	8.5	8.6	1.38	9.2 ^a	7.9 ^b	0.55	8.4	8.7	0.55
Gel (%)	24.4	18.1	7.4	30.0 ^a	12.5 ^b	3.0	22.8	19.7	3.0
Volumen (ml)	0.73	0.68	0.10	0.86 ^a	0.55 ^b	0.03	0.70	0.72	0.03
pH	7.41	7.39	0.10	7.49 ^a	7.37 ^b	0.04	7.63 ^a	7.24 ^b	0.04
Motilidad (%)	66.2	67.6	5.29	60.0 ^b	77.8 ^a	1.88	62.2 ^b	71.6 ^a	1.88
Espermas/eyaculado (millones)	407	334	42.3	344	397 ^a	31.2	385	356	31.2
Vivos normales (%) ¹	55.4 ^b	62.9 ^a	2.5	58.0	60.0	2.4	59.0	59.3	2.4
Vivos anormales (%)	20.9 ^a	14.5 ^b	2.6	17.6	18.0	1.5	21.3 ^a	14.2 ^b	1.5
Muertos normales (%)	17.3	17.0	2.2	17.9	16.5	2.2	15.4	19.0	2.2
Muertos anormales (%) ¹	6.4	5.6	1.0	6.5	5.5	1.0	4.3 ^b	7.5 ^a	1.0
Acrosomas normales (%)	98.0	98.1	0.7	98.2	98.0	0.5	97.1 ^b	99.1 ^a	0.5
Acrosomas anormales (%)	2.0	1.9	0.7	1.8	2.0	0.5	2.9 ^a	0.9 ^b	0.5

¹ - ESD= Error Estándar de la diferencia. [~] Medias en la misma hilera con letras diferentes son diferentes ($p \leq 0.05$).

La proporción de presencia de gel y volumen seminal en el primer eyaculado fueron mayores ($P = 0.0001$) que en el segundo (>140% y >56.4%). Sin embargo, la calidad del semen de este último fue mejor ($P = 0.0001$) que el primero en términos de incremento en la motilidad (>29.7%). El pH del semen fue influenciado por el orden de eyaculado y la estación ($P = 0.0001$). Los segundos eyaculados se acercaron a la normalidad mientras que los del primer eyaculado se acercaron a la alcalinidad. Similarmente, los eyaculados en invierno se acercaron a la neutralidad, mientras que el pH de los eyaculados de otoño a la alcalinidad. La motilidad espermática fue mayor ($P = 0.0001$) en invierno que en otoño (>15.1%). El porcentaje de espermatozoides vivos anormales en otoño fue superior ($P = 0.0001$; >50%) que en invierno. No

obstante, los eyaculados en esta última estación presentaron una mayor proporción ($P = 0.003$) de espermatozoides muertos anormales que en otoño ($>74.4\%$). El porcentaje de espermatozoides con acrosomas anormales en otoño fueron superiores ($P = 0.0001$) que en invierno ($>222.2\%$).

El tiempo de reacción, presencia de gel y la motilidad fueron influenciados por la interacción tratamiento por número de eyaculado ($P < 0.05$; Cuadro 2). Los conejos suplementados con germinados de trigo tardaron más tiempo para eyacular en la primera colección de semen que en la segunda ($P = 0.0004$; >2.8 s), mientras que en los conejos testigo el tiempo de reacción para la primera y la segunda colecta fueron similares. El tiempo de reacción más corto fue observado en la segunda eyaculación de los conejos suplementados con germinados de trigo. El primer eyaculado de los conejos testigos mostró una mayor incidencia a presentar gel que el segundo eyaculado ($P = 0.0001$; $>189.6\%$). Este mismo patrón se observó en los conejos suplementados con germinados pero las diferencias entre orden de eyaculado fueron menores ($P = 0.008$; $>90.4\%$). La presencia de gel en los segundos eyaculados fue similar para los dos tratamientos. La motilidad del segundo eyaculado fue mayor que en el primero. Sin embargo, en el caso del primer eyaculado la motilidad tendió a ser mayor ($P = 0.19$; $+15\%$) en conejos suplementados con germinado de trigo que en los conejos testigo mientras que para el segundo eyaculado los valores para conejos suplementados fueron inferiores (-6.4%) que los testigo pero las diferencias no fueron significativas ($P > 0.05$).

Cuadro 2. Características seminales y espermáticas en conejos sin germinado y con germinados y en dos eyaculaciones consecutivas.

	Sin germinado		Con germinado		valor de P
	Primer eyaculado	Segundo eyaculado	Primer eyaculado	Segundo eyaculado	
Tiempo de reacción (seg)	8.5 ^{ab}	8.6 ^{ab}	10.0 ^a	7.2 ^b	0.003
Gel (%)	36.2 ^a	12.5 ^b	23.8 ^{ab}	12.5 ^b	0.04
Motilidad (%)	52.1 ^b	80.2 ^a	59.8 ^b	75.4 ^a	0.0001

a,b-Medias en la misma fila con al menos una letra en común no son diferentes ($p > 0.05$).

Se encontraron efectos significativos ($P < 0.05$) en la interacción entre el orden de eyaculado y estación sobre tiempo de reacción, volumen y concentración espermática por eyaculado (Cuadro 3). En otoño los machos requirieron más tiempo (>2.9 s) para eyacular en la primera colección comparada con la segunda ($P = 0.0001$; $>43.5\%$) mientras que en invierno el tiempo de reacción para obtener los dos eyaculados fue similar. El volumen de los primeros eyaculados tanto en

otoño como en invierno fueron mayores ($P = 0.0001$) que los segundos. En el caso del primer eyaculado el volumen en invierno fue ligeramente más alto (>8.9%) que en otoño, mientras que el segundo eyaculado de otoño fue ligeramente superior (>7.5%) que el segundo de invierno. En otoño, la concentración por eyaculado fue mayor ($P < 0.001$; $>112 \times 10^6$) en el segundo eyaculado que en el primero (>34%), mientras que en invierno la concentraciones entre los dos eyaculados fueron similares.

Cuadro 3. Características seminales y espermáticas en conejos machos en otoño e invierno y en dos eyaculaciones consecutivas.

	Primer eyaculado		Segundo eyaculado		Valor de P
	Otoño	Invierno	Otoño	Invierno	
Tiempo de reacción (seg)	9.9 ^a	8.6 ^a	6.9 ^b	8.9 ^a	0.003
Volumen (ml)	0.82 ^b	0.90 ^a	0.57 ^c	0.53 ^c	0.02
Esperma /eyaculado (millones)	329 ^c	360 ^a	441 ^b	353 ^c	0.05

a,b,c- Medias en la misma fila con al menos una letra en común no son diferentes ($p > 0.05$).

4.6. DISCUSIÓN

El tiempo de reacción de 8.6% es más corto que el 13.2% reportado por Rodríguez-De Lara *et al.*, (2008). Las variaciones en las edades de los animales, el ritmo reproductivo, estación y genotipo pueden explicar las diferencias en tiempos de reacción entre estudios. Los niveles de producción y calidad del semen que se obtuvieron están dentro de los niveles que otros investigadores obtuvieron (Amann y Lambiase, 1967; Battaglini *et al.*, 1992; Alvariño, 2000). El porcentaje de acrosomas normales en el presente estudio fue de 94%. Este valor es ligeramente superior a la integración acrosomal de 86% encontrado por Mocé *et al.* (2000).

Suplementar con germinados de trigo a machos jóvenes en otoño e invierno mejoraron las características cualitativas del semen relacionados con la viabilidad y la morfología. Los conejos suplementados presentaron mayores proporciones de espermatozoides vivos normales y menores porcentajes de espermatozoides vivos anormales que los conejos testigos. Estos resultados son relevantes ya que defectos en la viabilidad y morfología de los espermatozoides disminuyen la

fertilidad y la eficiencia reproductiva del ganado (Porcelli *et al.*, 1984). Barth y Oko (1989) documentaron que el porcentaje de espermatozoides bovinos con morfología normal en una muestra de semen esta generalmente relacionado con su viabilidad; la morfología del espermatozoide se correlaciona más estrechamente con las tasas de fertilidad que con la concentración y la motilidad (Aziz *et al.*, 1996). El factor con el mayor índice predictivo de éxito con fertilización *in vitro* es la calidad espermática, morfología y el porcentaje de espermias con acrosomas intactos (Zhang *et al.*, 1998). Los efectos favorables encontrados en la calidad de semen en los conejos suplementados con germinado de trigo sugieren que el consumo diario de germinado 43 ± 0.66 g de MS por cuatro días antes de la colección de semen probablemente haya desencadenado una respuesta estimuladora en el proceso fisiológico reproductivo probablemente debido a la presencia del 6-MBOA la cual se ha demostrado en pequeños roedores herbívoros (Schadler *et al.*, 1988). Con base a las concentraciones de 6-MBOA reportadas para germinados de trigo por Epstein *et al.* (1986) podemos calcular que los conejos pudieron ingerir 17.2 mg g^{-1} de 6-MBOA de MS por día. Sin embargo, esto es solo una aproximación ya que las concentraciones de benzoxazolinones en germinados de trigo pueden variar de acuerdo a las partes de la planta, estado de desarrollo y estación (Friebe *et al.*, 1998). Las mejoras en viabilidad y morfología sugieren una mayor eficiencia funcional de las glándulas accesorias y del epidídimo, pero esto no está probado. Las diferencias en morfología espermática han sido atribuidas a variaciones en las actividades secretorias de las glándulas sexuales (León *et al.*, 1991), mientras que las diferencias en viabilidad espermática se ha asociado a los niveles de andrógenos producidos por los testículos durante el tiempo que las células permanecen en el epidídimo durante el proceso de maduración (Alvaríño, 2000).

En este estudio se mantuvo a los conejos bajo condiciones naturales de luz, durante las épocas estacionales más críticas del año donde el fotoperiodo y la temperatura son reducidas. En conejos domésticos la reproducción en la época otoñal e invernal no se detiene pero si se ve disminuida como resultado de la reducción de las horas luz y las bajas temperatura (Grobner *et al.*, 1987; Niza *et al.*, 2003); los resultados sugieren que suplementar con germinado de trigo durante periodos cortos mejora la calidad del semen en periodos estacionales críticos. En varias especies reguladas por el fotoperiodo, las gónadas y los tejidos sexuales accesorios experimentan una regresión, las hormonas reproductivas y el deseo sexual disminuyen cuando los animales se

mantienen en fotoperiodos cortos (Goldman y Darrow, 1983). La glándula pineal es un mediador del efecto de la duración del día a través de señales de melatonina la cual regula la reproducción en mamíferos estacionales (Reiter, 1986; Arendt, 1998; Martínez-Soriano *et al.*, 1999). Varios estudios han encontrado que fotoperiodos cortos pueden inhibir o reducir las actividades reproductivas en ratones y ratones de campo y que el consumo de 6-MBOA contenido en el germinado de trigo o la administración exógena de este compuesto contrarresta los efectos inhibitorios de los días cortos (Negus y Berger, 1977; Korn y Taitt, 1987; Schadler *et al.*, 1988). En los ratones de montaña el 6-MBOA incrementa el desarrollo testicular incluso cuando se administró cerca del solsticio de invierno (Berger *et al.*, 1981). Meek *et al.* (1995) encontraron que ratones de campo jóvenes (*Microtus pennsylvanicus*) suplementados con germinados de trigo presentaron mayores tamaños corporales, pesos de los testículos e índices espermatogénicos que aquellos alimentados con una dieta única en forma de pellets. Estos autores, observaron que machos mantenidos bajo 10 h luz/día y 14 h luz/día incrementaron sus funciones reproductivas cuando fueron suplementados con germinados de trigo y la mejor respuesta se observó cuando se mantuvieron bajo días cortos.

La información de cambios hormonales que ocurren en conejos en respuesta al 6-MBOA es limitada. El compuesto fenólico presente en el germinado de trigo pudiera estar actuando a nivel del complejo hipotálamo-hipofisiario o en los testículos. El 6-MBOA puede inducir una mayor sensibilidad al GnRH de la glándula pituitaria, así realza el proceso espermatogénico y la calidad del semen. En algunas especies animales estacionales se ha encontrado que la melatonina actúa como hormona antigonadotropina inhibiendo la liberación de la gonadotropina y afectando la espermatogénesis (Talbot y Reiter, 1973; Mas y Oaknin, 1977). Grobner *et al.* (1987) propusieron, en conejos, un mecanismo de acción alternativo para explicar el efecto estimulador del 6-MBOA ofrecido en la dieta sobre la reproducción: probablemente el 6-MBOA funciona como un antagonista de la melatonina y compite por los sitios receptores de ésta, reduciendo, así la respuesta de la melatonina. Alternativamente, el 6-MBOA puede modular el sistema regulatorio de la hormona y causar una reducción de melatonina. Podría ser que el 6-MBOA actué como un retroalimentador negativo que modula la melatonina al evitar exhibir las propiedades antigonadotrópicas de ésta. Otra alternativa puede ser que el 6-MBOA es un agonista de la melatonina. En ratones de campo de Montana, a la asociación progonadal con el consumo

de plantas que contenían 6-MBOA se ha atribuido a una sobre estimulación de los receptores específicos de la melatonina, al bloqueo de los receptores de la melatonina en el sistema nervioso central o a una acción directa del 6-MBOA sobre las gónadas (Yuwiler y Winters, 1985). Anderson *et al.* (1988) al administrar diferentes fuentes 6-MBOA en hamsters no encontraron efectos en el tamaño de los testículos y sostienen que este compuesto no actúa como un agonista a la melatonina. En ratas, el 6-MBOA puede haber inhibido el efecto de la melatonina sobre el sistema reproductivo (Daya *et al.*, 1990). En contraste a la melatonina, 6-MBOA puede actuar en los testículos o en la glándula pituitaria más que en la glándula pineal. Esto se basa en el hecho de que la respuesta a la melatonina toma un largo tiempo, mientras que en este estudio la acción del 6-MBOA en la dieta fue inmediata.

Estudios en machos hámster adultos han mostrado que el 6-MBOA no eliminó los efectos que el fotoperiodo corto y las bajas temperaturas ejercen en los testículos y los órganos accesorios (Vaughan *et al.*, 1988). Sin embargo, animales tratados con 6-MBOA mantenidos al aire libre mostraron concentraciones significativamente mayores hipofisarias de la hormona folículo estimulante (FSH.) Los incrementos en los niveles de FSH en la pituitaria en respuesta a 6-MBOA contenido en el germinado de trigo se asemejan a lo encontrado en hembras (Schadler *et al.*, 1988). Las mejoras en la calidad de semen en el presente estudio sugieren que el 6-MBOA contenido en los germinados de trigo pudieran haber incrementado los niveles de FSH mejorando así la función de las células de Sertoli pero esto no fue determinado y requiere de más investigaciones incluyendo el papel que juegan otras hormonas. En general, en machos la FSH actúa en el funcionamiento normal de las células de Sertoli y provee de soporte para la maduración normal de las espermatogonias (Sharpe, 1989; Dierich *et al.*, 1998). Lo que no está claro es porque los conejos suplementados con germinados de trigo produjeron menor cantidad de espermatozoides, y existe la incógnita si los mayores pesos de estos conejos a lo largo del experimento pudieran haber influenciado negativamente las concentraciones espermáticas de los eyaculados. En humanos, se ha reportado una relación inversa entre el índice de masa corporal y el número total de espermatozoides motiles normales, el total de espermatozoides motiles en hombres con sobre peso y obesidad fueron menos que en hombres con un índice normal de masa corporal (Kort *et al.*, 2006). El mayor peso corporal de los conejos suplementados pudo deberse

al suplemento adicional de proteína contenido en el material de la planta como se mostró en el análisis químico.

El tiempo de reacción fue más corto ($P > 0.05$) en el segundo eyaculado que el primero. Estos resultados son diferentes a los tiempos de reacción reportados por Rodríguez-De Lara *et al.* (2008) quienes encontraron lo contrario. Sin embargo, en el presente estudio el corto tiempo de reacción en el segundo eyaculado obtenido en conejos suplementados con germinados hizo la diferencia entre estudios. La alta incidencia de gel y volumen en el primer eyaculado comparada con el segundo está de acuerdo con los hallazgos encontrados por Amman y Lambiase (1967) y Rodríguez-De Lara *et al.* (2008). La motilidad más alta en el segundo eyaculado que en el primero han sido también reportada por Battaglini *et al.* (1992). La motilidad más alta en el segundo eyaculado pudiera estar relacionada con condiciones más favorables en la composición química de los fluidos seminales pero esto no fue determinado. Axner *et al.* (1997) sostiene que el envejecimiento de espermatozoides del primer eyaculado pudiera explicar la disminución de la calidad del semen con respecto segundo eyaculado.

El potencial reproductivo de machos en invierno fue mejor. Los eyaculados en invierno fueron mejores que los de otoño en términos de las condiciones de pH y motilidad. La proporción de espermatozoides con daño acrosomal en invierno fue mayor ($P < 0.05$). Los valores más bajos en la calidad de semen en otoño sugieren que probablemente el calor al final del verano pudieron influenciar el proceso de espermatogénesis los inicios de los ciclos del epitelio seminífero. En el conejo, la espermatogénesis el cual dura aproximadamente 42 días (Mocé *et al.*, 2000) Las altas temperaturas han mostrado alterar la morfología, disminuir la motilidad y la libido en los conejos (Brockhausen *et al.*, 1979). Sin embargo, en nuestro estudio la reducción del fotoperiodo y temperatura probablemente también hayan actuado como mediadores en la respuesta reproductiva.

Los conejos en el presente estudio mostraron una gran variación en la libido y en las características del semen. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Theau-Clement *et al.* (1995) quienes sostienen que estas diferencias individuales en el comportamiento reproductivo son debidos al genotipo.

4.7. CONCLUSIONES

La suplementación con germinados de trigo mejoró la calidad del semen en conejos, inclusive en periodos críticos reproductivos, esta mejora puede tener un efecto positivo en los niveles de fertilidad y prolificidad. Sin embargo, el proceso de producción de germinado de trigo presenta ciertos inconvenientes de aplicación en la práctica por lo que se sugiere probar con extractos de 6-MBOA administrados en el agua, de forma inyectada, en el alimento, en implantes o aplicando por aspersión para obtener un beneficio de esta limpia biotecnología natural para aumentar la reproducción del macho.

4.8. LITERATURA CITADA

- Alvariño, M. R. 2000. Reproductive performance of male rabbit. In: Proceedings of Seventh World Rabbit Congress. 4-7 July, Valencia, España, Vol. A., 13-35.
- Amman, R.P. and J.T. Lambiase, 1967. The male rabbit. I. Changes in semen characteristic and sperm output between puberty and one year of age. J. Reprod. Fert. 14: 329-332.
- Anderson, K. D., R. J. Nachman, and F. W. Turek. 1988. Effects of melatonin and 6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA) on photoperiodic control of testis in adult male golden hamsters. J. Pineal Res. 5, 351-365.
- Arendt, J. 1998. Melatonin and pineal gland: influence on mammalian seasonal and circadian physiology. Rev. Reprod. 3: 13-22.
- Axnér, E., B. Ström, and C. Linde-Forsberg. 1997. Sperm morphology is better in the second ejaculate than in the first in domestic cats electroejaculated twice during the same period of anesthesia. Theriogenology. 47, 929-934.
- Aziz, N., I. Buchan, C. Taylor, C. R. Kingsland and I. Lewis-Jones. 1996. The sperm deformity index: a reliable predictor of the outcome of oocyte fertilization in vitro. Fertil. Steril. 66: 1000-1008.
- Barth, A. D., and R. J. Oko. 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa City: Iowa State University Press, Ames, Iowa 50010, 136-143.
- Battaglini, M., C. Castellini, and P. Lattaioli. 1992. Variability of the main characteristics of rabbit semen. J. App. Rabbit Res. 15: 439-446.
- Berger, P. J., N. C. Negus, E. H. Sanders, and P. D. Gardner. 1981. Chemical triggering of reproduction in Microtus montanus. Science. 214: 69-70.
- Brockhausen, P., S. Paufler, and W. Schlolaut. 1979. Influence of heat and stress, due to length of the coat, on semen quality traits, sexual behavior and testis volume of Angora rabbits. Züchtungskunde. 51, 234-248.
- Butterstein, G. M. and M. H. Schadler. 1988. The plant metabolite 6-methoxybenzoxazolinone interacts with follicle-stimulating hormone to enhance ovarian growth. Biol. Reprod. 39, 465-471.

- Daya, S., B. Pangerl, M. E. Troiani, and R. J. Reiter. 1990. Effect of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the activity of rat pineal n-acetyltransferase and hydroxyindole-0-methyltransferase and on melatonin production. *J. Pineal Res.* 8, 57-66.
- Dierich, A., M. R. Sairam, L. Monaco, G. M. Fimia, A. Gansmuller, M. LeMeur, and P. Sassone-Corsi. 1998. Impairing follicle-stimulating hormone (FSH) signaling *in vivo*: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 95: 13612-13617.
- Epstein, W. W., C. N. Rowsemmit, P. J. Berger, and N. C. Negus. 1986. Dynamics of 6-Methoxybenzoxazolinone in whiter wheat. *J. Chem. Ecol.* 12, 2011-20020.
- Friebe, A., Vilich, V., Henning, L., Kluge, M., Sicker, D., 1998. Detoxification of benzoxazolinone allelochemical from wheat by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*, *G. graminis* var. *graminis*, *G. graminis* var. *avenae*, and *Fusarium culmorum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2386-2391.
- Goldman, D. B., and M. J. Darrow. 1983. The pineal gland and mammalian photoperiodism. *Neuroendocrinology*, 37: 386-396.
- Grobner, M. A., P. R. Cheeke, N. M. Patton, and R. J. Nachman. 1987. The effect of 6-methoxybenzoxazolinone (6-MBOA) on ovarian and uterine weights in non-parous rabbits. *J. Appl. Rabbit Res.* 3: 222-226.
- Korn, H., and M. J. Taitt. 1987. Initiation of early breeding in a population of *Microtus townsendii* (rodentia) with the secondary plant compound 6-MBOA. *Oecology* 71, 593-596.
- Kort H.I, Massey, J.B., Elsner, C.W., Mitchell-Leef, D., Shapiro, D.B. Witt, M.A., Roudebush, W.E. 2006. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J. Androl.* 27,450-452.
- León, H., A. A. Porras,, C. S. Galina and R. Navarro-Fierro. 1991. Effect of collection method on semen characteristics of zebu and European type cattle in the tropics. *Theriogenology.* 36: 349-355.
- Martínez –Soriano, F., T. Hernández-Gil de Tejada, M. López-Bigorra, S. Ballester-Carmona, and L. Vollrath, 1999. Circadian and seasonal changes of synaptic bodies in different parts of the rabbit pineal gland. *Histol. Histopathol.* 14, 1079-1091.
- Mas M., Oaknin, S. 1977. Effects of pineal 5-methoxyindoles on male sex behavior and spermatogenesis. *Pineal Gland Symposium. Israel, Abstr.* 18.

- Meek, L. R., T. M. Lee, and J. F. Gallon. 1995. Interaction of maternal photoperiod history and food type on growth and reproductive development of laboratory Meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Physiology and Behaviour*, 57, 905-911.
- Mocé, E., M. Aroca, R. Lavara, and J. J. Pascual 2000. Effect of dietary zinc and vitamin supplementation on semen characteristics of high growth rate males during summer season. In *Procc. 7th World Rabbit Congress, July 2000, Valencia, España*. Vol. A., 203-209.
- Negus, N. C., and P. J. Berger. 1977. Experimental triggering of reproduction in a natural population of *Microtus montanus*. *Science*. 196, 1230-1231.
- Nelson, R. J., and J. M. C. Biota. 1993. 6-Methoxy-benzoxazolinone and photoperiod: prenatal and postnatal influences on reproductive development in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Can. J. Zool.* 71, 776-789.
- Nizza, A., C. Di Meo, and S. Taranto. 2000. Influence of dietary protein content on libido and semen characteristics bucks. In *Procc. 7th World Rabbit Congress. Valencia, España*. Vol. A. 217-224.
- Nizza, A., C. Di Meo, and S. Taranto. 2003. Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *Reprod. Domest. Anim.* 38, 436-439.
- Pinter, A. J., and M. C. Negus. 1965. Effects of nutrition and photoperiod on reproduction physiology of *Microtus montanus*. *Am. J. Physiol.* 208, 633-638.
- Poole, W.E. 1960. Breeding of the wild Rabbit in relation to environment. *CSIRO Wild Res.* 5,21-43.
- Porcelli, F., C.A. Redi, and G. Succi. 1984. Chromatin condensation patterns of spermatozoa during epididymal passage in normal and a chimeric bull. *Basic Appl Histochem*, 28, 159-168.
- Rebollar, P.G., E. Ubilla, J.M. Alvariño, P.L. Lorenzo, G. Silván, J.C. Illera. 1998. Effect of HCG or ganadoreline on seminal parameters and plasma testosterone levels in yong male rabbits . *J. Physiol. Biochem.* 54, 161-166.
- Reiter, R. J. 1986. Annual cycle of reproduction in mammals: adaptive mechanism involving the photoperiod and the pineal gland. In: Assenmacheri, Bioissin, J., (eds.) *Endocrine Regulations as Adaptive Mechanisms to the Environment*. Paris: Les Press du CNRS. 161-170.

- Rodríguez De Lara, R., C. A. Herrera, L. M. Fallas, S. R. Rangel, A.V. Mariscal, P. A. Martínez, and M. J. G. García. 2007. Influence of supplementary dietary sprouted whet on reproduction in artificially inseminated doe rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 99, 145-155.
- Rodríguez-De Lara, R., L. M. Fallas, S. R. Rangel, A.V. Mariscal, H. P. A. Martínez, M. J. G. and García. 2008. Influence of doe exposure and season on reaction time and semen quality of male rabbits. 9th World Rabbit Congress. Verone, Italy. *Reproduction*. 443-447.
- Sanders, E. H., P. D. Gardner, P. J. Berger, and N. C. Negus. 1981. 6-Methoxibenzoxazolinone: a plant derivative that stimulates reproduction in *Microtus montanus*. *Science*. 214, 67-69.
- SAS, 2004. SAS User's Guide Statistics (Release 9.1). SAS. Institute, Cary, NC, USA.
- Schadler, M. H., B. J. Butterstein, B. J. Faulkner, S.C. Rice, and L.A. Weisinger. 1988. The plant metabolite, 6-methoxibenzoxazolinone, stimulates an increase in secretion of follicle-stimulating hormone and size of reproductive organs in *Microtus pinetorum*. *Biol. Reprod.* 38, 817-820.
- Sharpe, R. M. 1989. Follicle stimulating hormone and spermatogenesis in the adult male. *J. Endocrinol.* 121, 405-407.
- Talbot, J. A. and Reiter, R.J., 1973. Influence of melatonin, 5-methoxytryptophol and pinealectomy of pituitary and plasma gonadotrophin and prolactin levels in castrated adult male rats. *Neuroendocr.* 13, 164-172.
- Theau-Clement, M., N. Michel, J. Espabie, and G. Bolet. 1995. Effects of artificial photoperiods on sexual behavior and sperm output in the rabbit. *Animal Science*. 60, 143-149.
- Vaughan, M. K., J. C. Little, G. M. Vaughan, and R. J. Reiter. 1988. Hormonal consequences of subcutaneous 6-methoxy-2-benzoxazolinone pellets or injections in prepubertal male and female rats. *J. Reprod. Fert.* 83, 859-866.
- Yuwiler, A., and W. D. Winters. 1985. Effects of 6-methoxy2-benzoxazolinone on the pineal melatonin generating system. *Am. Soc. Exp. Therap.* 233, 45-50.
- Zhang, B. R., Larson, B., Lundeheim, N., Rodriguez-Martinez, H., 1998. Sperm characteristics and zona pellucida binding in relation to field fertility of frozen-thawed semen from dairy AI bulls. *Int. J. Androl.* 21, 207 -216.