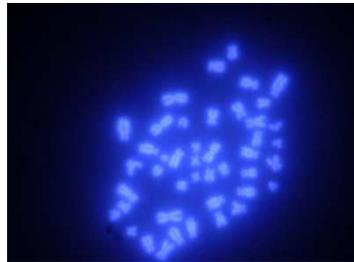




UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

MÁSTER INTERNACIONAL EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y
BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN



ESTIMACIÓN DE LOS PARÁMETROS GENÉTICOS DE PRODUCCIÓN
Y CALIDAD SEMINAL EN UNA LÍNEA PATERNAL DE CONEJOS

Alumna:

Raquel Lavara García

Directores:

D. Manuel Baselga Izquierdo

D. José Salvador Vicente Antón

Julio 2009

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mis directores y compañeros, Manuel Baselga Izquierdo y José Salvador Vicente Antón, por su gran ayuda.

A todos los compañeros del Departamento e Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, con especial cariño a mis compañeros de laboratorio, granja y cuarta planta. A los responsables de los núcleos de inseminación por todas las facilidades y apoyo prestado durante la realización de la fase experimental.

A mis compañeros de máster, especialmente a mis compañeras Lola, Llibertat y Marina, por los buenos momentos pasados.

Y por último y no por ello menos importante a mis amigos y familiares que por suerte, son numerosos y tienen mucha paciencia.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estimar los parámetros genéticos de las características espermáticas de una línea paternal de conejos. Para ello se utilizaron un total de 412 machos de la línea R, seleccionada durante 25 generaciones por velocidad de crecimiento (GMD) durante el periodo de engorde, que estaban alojados en tres núcleos de inseminación diferentes. El periodo de entrenamiento de los machos comenzó a la edad de 5 meses, el ritmo reproductivo al que fueron sometidos fue de dos eyaculados a la semana. Las muestras de semen se recuperaron en dos etapas, la primera de ellas al terminar el periodo de entrenamiento y la segunda trascurridos al menos 3 meses después de concluida la primera.

Las variables analizadas fueron: las implicadas directamente en la producción seminal (volumen, concentración y número total de espermatozoides por eyaculado), variables morfológicas (porcentaje de normalidad acrosómica, porcentaje de espermatozoides anormales), variables morfométricas (longitud, área, anchura y perímetro de la cabeza del espermatozoide), y por último los parámetros de la motilidad espermática determinados mediante el uso de un sistema automático de análisis (porcentaje de motilidad, velocidad lineal, velocidad curvilínea, velocidad rectilínea, índice de rectitud, índice de oscilación, índice de linealidad y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide).

Los componentes de varianza de las características seminales y de crecimiento fueron estimadas utilizando un modelo animal bivariante. El modelo mixto utilizado para todas las variables seminales propuestas incluía el núcleo-año-estación, la edad, y el orden de eyaculado como efectos fijos, y el animal, el efecto permanente y genético no aditivo, el efecto de camada de origen y el residual como efectos aleatorios. El modelo mixto utilizado para la variable ganancia media diaria, incluía el tamaño de camada como covariable, el orden de parto y el año-estación como efectos fijos, y el animal, el efecto de camada de origen, el efecto permanente y genético no aditivo y el residual como efectos aleatorios.

Las variables que definen la producción y motilidad seminal, presentaron heredabilidad bajas (0,07-0,12). Por el contrario, las variables relacionadas con la morfología y morfometría del espermatozoide presentaron heredabilidades intermedias (0,18-0,29).

La mayoría de las variables presentaron una correlación genética moderada y desfavorable con la ganancia media diaria (GMD). A excepción del volumen que presentó una correlación genética favorable con la ganancia media diaria (GMD).

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the genetic parameters of seminal characteristics in a paternal rabbit line selected for increased growth rate in the fattening period (GMD). Bucks (n=412) from line R, selected during 25 generations, located in three different insemination stations were used. The reproductive rhythm of males were two ejaculates per week, the training period started at five months of age, the semen samples were taken one week after finishing the training period and three months later this period. The examined traits were: traits involved in total seminal production (volume, concentration, and total number of spermatozoa per ejaculate), morphological traits (percentage of spermatozoa with normal apical rigde, percentage of sperm morphological abnormalities), morphometry traits (length of head spermatozoa, width of sperm head, area of sperm head and perimeter of sperm head), and sperm motility parameters assessed using a computer-assisted sperm analysis (percentage of total motile sperm, average path velocity, curvilinear velocity, straight-line velocity, linearity index, amplitude of lateral head displacement, wobble, and straightness).

(Co)variance genetic components of buck semen characteristics and growth traits were estimated using a bivariate animal model. Equal model equations for all semen traits included the artificial insemination station-year season, the age, and order of ejaculate as fixed effects; the animal, the permanent environmental and non-additive genetic effect of the male over all its ejaculates, the common litter effect and the residual as random effects. The model of daily gain (GMD), included litter size at birth as covariate, parity order and year-season as fixed effects and the animal, the common litter, the permanent environmental and non-additive genetic effect, and the residual as random effects.

Estimates of heritability were low for motility traits, and for those involved in semen production (0.07-0.12), nevertheless, the heritability for morphological and morphometry traits were intermediate (0.18-0.12).

The majority of semen characteristics had unfavorable genetic correlations with GMD. With the exception of the volume that showed a favorable genetic correlation with GMD

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- Situación actual de la inseminación artificial en cunicultura	1
1.2.- Mejora genética del conejo de carne	2
1.2.1.- Programas de mejora	2
1.2.2.- La difusión del material genético	2
1.3.- Factores de variación en la producción de dosis de inseminación	4
1.3.1.- Producción espermática del macho	4
1.3.1.1.- Valoración de la producción espermática	5
1.3.2.- Calidad espermática del eyaculado	6
1.3.2.1.- Motilidad	6
1.3.2.2.- Formas anormales	8
1.3.2.3.- Integridad de la membrana acrosomal	9
1.3.3.- Factores ambientales que influyen sobre la producción y calidad espermática	10
1.3.3.1.- Condiciones ambientales	10
1.3.3.2.- Frecuencia y tipo de recuperación	11
1.3.3.3.- Estado sanitario	11

1.3.3.4.- Estrategias nutricionales	11
1.4.- Parámetros genéticos de la producción y calidad espermática	12
2.- OBJETIVOS	14
3.- MATERIAL Y MÉTODOS	15
3.1.- Análisis de los parámetros seminales	15
3.1.1.- Material animal	15
3.1.2.- Condiciones ambientales y de manejo de los animales	15
3.1.3.- Recuperación y valoración seminal	17
3.1.3.1.- Recuperación del semen	17
3.1.3.2.- Valoración del semen	17
3.1.4.- Análisis estadístico.	21
4.- RESULTADOS	23
5.- DISCUSIÓN	35
6.- CONCLUSIONES	43
7.- BIBLIOGRAFÍA	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Variables CASA. Valores en espermatozoides de conejo.	7
Tabla 2	Heredabilidades (repetibilidades) de las variables relacionadas con la producción seminal.	12
Tabla 3	Análisis descriptivo de las variables implicadas en la producción seminal y la ganancia media diaria.	23
Tabla 4	Análisis descriptivo de la motilidad y las características cinéticas del semen.	24
Tabla 5	Análisis descriptivo de la normalidad acrosómica, porcentaje de espermatozoides anormales, y morfometría de la cabeza del espermatozoide.	25
Tabla 6	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para la ganancia media diaria (GMD), volumen del eyaculado (VOL), nº de espermatozoides por eyaculado (SPZ) y concentración espermática por eyaculado (CONC).	27
Tabla 7	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para las variables porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR), normalidad acrosómica (NAR), longitud de la cabeza del espermatozoide (LONG), perímetro de la cabeza del	

	espermatozoide (PERI), área de la cabeza del espermatozoide (AREA) y anchura de la cabeza del espermatozoide (ANCH).	28
Tabla 8	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para la motilidad espermática (MOT) y las variables que definen la calidad del movimiento de los espermatozoides móviles.	29
Tabla 9	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre la ganancia media diaria (GMD) y las variables volumen (VOL), concentración (CONC) y número de espermatozoides por eyaculado (SPZ).	31
Tabla 10	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre la ganancia media diaria y las variables relacionadas con la cantidad y calidad del movimiento espermático.	32
Tabla 11	Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre las variables seminales, porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR), normalidad acrosómica (NAR), longitud de la cabeza del espermatozoide (LONG), perímetro de la cabeza del espermatozoide (PERI), área de la cabeza del espermatozoide (AREA), anchura de la cabeza del espermatozoide (ANCH) y la ganancia media diaria (GMD).	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Semen de conejo	8
Figura 2	Normalidad acrosómica	9
Figura 3	Detalle granja Universidad Politécnica de Valencia	16
Figura 4	Vagina artificial y tubo colector	17
Figura 5	Cámara Thoma para recuento espermático	20

1. INTRODUCCIÓN

1.1.- SITUACIÓN ACTUAL DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CUNICULTURA

La inseminación artificial (IA) como técnica reproductiva ha experimentado un rápido desarrollo desde sus comienzos en los años 50, y en la actualidad es una de las técnicas más utilizadas en reproducción animal a nivel mundial (Humblot, 1999).

La cunicultura industrial ha sufrido cambios sustanciales durante las últimas décadas, uno de ellos ha sido el aumento de tamaño de las explotaciones (Ramón *et al.*, 2002). Este incremento en el número de hembras ha supuesto un cambio en el manejo de las granjas, pasando de la tradicional banda semanal donde se cubrían las hembras una o dos veces por semana mediante monta natural, a la necesidad de trabajar en bandas mayores como las de 21 días o banda única para poder rentabilizar al máximo el tiempo de trabajo y poder de esta forma manejar un mayor número de hembras por operario o unidad trabajo hombre, bandas en las que es necesario el uso de la inseminación artificial. Esto ha supuesto una rápida expansión de la inseminación artificial en cunicultura, pasándose de un 33,3% del total de las explotaciones españolas que realizaban inseminación artificial en el año 2003 a un 62,5% en el año 2008, llegando a ser la inseminación artificial el principal

sistema de reproducción. Además indicar que el 81,5% del total de gazapos producidos en España provienen de inseminación artificial (MMA, 2009). Esta expansión no ha conllevado ni en España, ni en otros países como Italia o Francia, grandes avances en las técnicas de inseminación, que se encuentran todavía limitadas por diferentes deficiencias, entre las que podemos mencionar: una baja proporción de hembras inseminadas por macho y una alta variabilidad de resultados de la aplicación del semen conservado durante largos periodos de tiempo.

1.2.- MEJORA GENÉTICA DEL CONEJO DE CARNE

1.2.1.- Programas de mejora

La mejora genética de los caracteres de interés productivo se basa en la selección intra-línea y en el uso de los cruzamiento. La mayoría de las líneas de los programas de mejora genética que se conocen, se seleccionan por un carácter. Así, los criterios de selección son el número de nacidos vivos o el número de destetados en las líneas maternas que se van a cruzar para obtener la coneja reproductora, y la velocidad de crecimiento en la línea paternal, criterios que prácticamente no se han modificado desde la puesta en marcha de los programas de mejora (Santacreu, 2002).

En la actualidad, no se tiene mucha información acerca de las correlaciones genéticas entre los caracteres reproductivos y los de crecimiento, las estimas más recientes están de acuerdo con la escasa bibliografía previa y apuntan a una correlación débil cercana a cero pero que puede ser positiva o negativa dependiendo de la población estudiada (Gómez *et al.*, 2000; García y Baselga, 2002; Piles *et al.*, 2008; Tusell *et al.*, 2009).

1.2.2.- La difusión del material genético

La difusión del material genético en cunicultura está organizada siguiendo un esquema piramidal para abaratar el coste de los reproductores. En ocasiones la multiplicación se realiza en la propia granja de producción lo que aporta numerosas ventajas tanto económicas, como sanitarias, como de adaptación. El cruce a tres vías es el procedimiento más habitual para obtener el gazapo de engorde. La hembra reproductora suele ser una hembra cruzada que se obtiene a partir del cruce de machos y hembras (abuelos) de dos líneas maternas distintas. (Baselga *et al.*, 1996; Gómez y Santacreu, 1996; Torres *et al.*, 1997). El citado cruce, que aprovecha la heterosis y la complementariedad de los caracteres reproductivos, si se realiza en la granja de producción permite abaratar el coste de la reposición y evitar los problemas de adaptación de las hembras cruzadas. El cruce de la hembra cruzada con el macho de la línea paternal, permite aprovechar la complementariedad y producir un número de gazapos elevado con buen crecimiento e índice de conversión durante el periodo de engorde.

La novedad más destacable de los últimos años desde el punto de vista de la difusión de la mejora genética, es el uso de la inseminación artificial.

El potencial de la inseminación artificial para la difusión del material genético seleccionado, sobre todo en las líneas paternas, es algo ya constatado por diversos autores. El problema actual radica en que existe un nuevo "cliente" con distintas necesidades, que son los centros de inseminación artificial. Básicamente, en los centros de inseminación artificial lo que se pretende es que los machos seleccionados, además de transmitir a su progenie la velocidad de crecimiento, sean capaces de generar un gran número de dosis seminales con una calidad espermática óptima. En estos centros los animales llegan desde el núcleo de selección a una edad de aproximadamente unos 2 - 2,5 meses de edad, y a partir del 5º mes comienza la etapa de testaje. El macho puede o no completar esta etapa de forma satisfactoria en función de su

producción y calidad espermática. Así, hay que tener en cuenta que la mayor causa de eliminación de machos en los centros de inseminación artificial es la falta de libido y la baja calidad o producción seminal (Rosell y De la Fuente, 2009), por lo que aproximadamente un 30-40% de los machos no finalizan satisfactoriamente la etapa de testaje.

Para ser competitivos, los centros de inseminación artificial necesitan incrementar el número de dosis de inseminación producidas por macho. Este incremento podría obtenerse por dos vías alternativas, la primera de ellas sería optimizando los protocolos de preparación, conservación e inseminación de las dosis seminales. La segunda de las vías sería incrementando la cantidad y/o la calidad de semen producido por un macho.

1.3.- FACTORES DE VARIACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE DOSIS DE INSEMINACIÓN

Son varios los criterios que condicionan la cantidad de semen que podremos utilizar por cada uno de los machos. El primero de todos es la libido del animal y la adaptación a la recuperación del eyaculado mediante la vagina artificial. El segundo es el número de espermatozoides por eyaculado (producción espermática). Y por último la calidad de los espermatozoides: motilidad, normalidad acrosómica y formas anormales.

1.3.1.- Producción espermática del macho

Las células espermáticas son producidas en el testículo, maduras y almacenadas en el epidídimo y conducto deferente. En la eyaculación, los espermatozoides y los constituyentes del plasma seminal, producidos por las glándulas anejas, son vertidos a la uretra, formando el eyaculado. Tanto la actividad de los tubos seminíferos en el testículo como la de las glándulas

anejas, está regulada endocrinamente por las secreciones del eje hipotálamo-hipofisario y por las secreciones de testosterona de las células de Leydig del testículo. La duración de la espermatogénesis en conejo es de unos 49 días. El espermatozoide sufre una serie de cambios morfológicos y funcionales durante su maduración epididimaria y su posterior tránsito por el tracto reproductor de la coneja. Una espermatogonia da 16 espermatocitos primarios, de cada uno de los cuales se obtienen una media de 3,1 espermátidas, lo que indica una cierta degeneración durante las divisiones de reducción y maduración. La producción diaria de espermatozoides se estima en 30 a 40 millones por gramo de testículo y día, es decir, un total de 250 millones, con variaciones raciales y estacionales.

La producción espermática en el testículo es un proceso continuo, pero la evacuación del tracto reproductor masculino se produce de manera discontinua, respondiendo a la actividad sexual de cada individuo, por lo que es necesario un almacenamiento de los espermatozoides durante periodos de tiempo variables, y es fundamentalmente la cola del epidídimo la región del tracto reproductor que lleva a cabo esta función.

Los valores observados en la bibliografía consultada muestran la variabilidad existente en los eyaculados de conejo, para el volumen, concentración y producción espermática, donde se muestran rangos comprendidos desde 0,9 hasta 0,46 mL para el volumen, de 738 hasta 106×10^6 spz/mL para la concentración espermática, y de 368 hasta 99×10^6 spz/eyaculado para la producción espermática (Arroita *et al.*, 2000; Vicente *et al.*, 2000; Brun *et al.*, 2002a; Nizza *et al.*, 2003; Mocé *et al.*, 2005).

1.3.1.1.-Valoración de la producción espermática

La producción seminal por eyaculado de un macho dependerá del volumen y concentración del mismo.

La concentración espermática puede valorarse mediante el uso de distintas metodologías como pueden ser: espectrofotometría, citometría de flujo, los sistemas de análisis de imágenes computerizados (CASA), y recuento en cámara celular o hemocitómetro tipo Bürker, Thoma, Neubauer. El método directo más empleado para la evaluación de la concentración espermática en semen de conejos desde los comienzos de la inseminación artificial en esta especie (Walton, 1927), ha sido el uso del hemocitómetro. Recientemente Theau-Clément y Falières (2005) utilizaron un método de recuento celular automático basado en la tinción fluorescente con DAPI de los núcleos celulares (NucleoCounter SP100), observando una buena correlación con la medida realizada mediante el uso de una cámara de recuento celular, el único inconveniente que presenta el método es el elevado coste de cada una de las mediciones. De la misma forma Castellini *et al.* (2007a), desarrollaron un método espectrofotométrico de medición que se podría decir que es específico para conejo, ya que tiene en cuenta el grado de partículas que son distintas de los espermatozoides, así cuando la densidad óptica se corrige por el grado de partículas el coeficiente de correlación con la medición en cámara de recuento celular es de 0,96, presentándose como un método económico y de fácil implementación en la rutina de preparación de dosis seminales en los centros de inseminación.

1.3.2.- Calidad espermática del eyaculado

Durante el tránsito por el epidídimo, los espermatozoides sufren un proceso de maduración. En este proceso juegan un papel primordial las secreciones epididimarias, por las que los espermatozoides condensan su acrosoma, eliminan su gota citoplasmática, y adquieren motilidad y cierta capacidad fecundante (Pérez Sánchez *et al.*, 1996).

Hay que señalar que es difícil predecir los resultados que se pueden obtener con una determinada muestra de semen a partir de los parámetros actualmente evaluados en el eyaculado o en los espermatozoides, ya que el complejo proceso de fecundación depende de gran cantidad de factores.

Las valoraciones seminales hasta el momento, se centran en descartar aquellos eyaculados que presentan una motilidad inferior al 70%, un porcentaje de formas anormales superior al 15%, o un porcentaje de espermatozoides que muestran el acrosoma reaccionado superior al 20%, obteniéndose con estos valores resultados de fertilidad y prolificidad comparables en promedio a los de monta.

1.3.2.1.-Motilidad

La motilidad del flagelo se estimula tras la eyaculación, modulándose durante el tránsito a través del tracto reproductivo de la hembra, ya que dicho tránsito, implica cambios secuenciales importantes en los patrones de motilidad espermática (Davis y Siemers, 1995).

Los eyaculados de conejo presentan valores medios de motilidad comprendidos entre: 64-87,5% (Williams *et al.*, 1990; Arroita *et al.*, 2000; Vicente *et al.*, 2000; Brun *et al.*, 2002a; Nizza *et al.*, 2003; Mocé *et al.*, 2005).

La motilidad espermática se ha valorado clásicamente de manera subjetiva, como el porcentaje de espermatozoides mótils respecto al total y el tipo de movimiento que presentan. Uno de los problemas que presenta esta forma de valoración general de la motilidad espermática es que la exactitud y precisión de la medida está limitada por el tipo de microscopio utilizado y la destreza del operador, además de la imposibilidad de que los resultados obtenidos por varios operadores puedan ser correctamente comparados. Por esta razón, en los últimos años, la aparición de los sistemas informatizados de

digitalización de imágenes deja abierto el campo de estudio de la motilidad de los espermatozoides. Estos sistemas, denominados CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), establecen de una manera efectiva medidas cuantitativas del movimiento individual de los espermatozoides, los cuales permiten diferenciar a los espermatozoides por sus características de motilidad (Mortimer, 2000). En conejos, se ha observado como la motilidad determinada mediante un sistema CASA, en combinación con la valoración de la morfología espermática y el estado del acrosoma del espermatozoide, parece dar información útil para poder estimar parte de la futura fertilidad de las dosis seminales (hasta un 45% de la variación del porcentaje de partos, podría ser explicada mediante un modelo de regresión) (Lavara *et al.* 2005).

Tabla 1: Variables CASA. Valores en espermatozoides de conejo.

Variables cinéticas y definiciones		Rango	Referencia
LIN (%)	Índice de linealidad (VSL/VCL)	41-74	Farrell <i>et al.</i> , 1993; 1996; Brun <i>et al.</i> , 2006; Lavara <i>et al.</i> , 2008.
VAP (µm/s)	Velocidad lineal	40-108	Farrell <i>et al.</i> , 1993; 1996; Brun <i>et al.</i> , 2006; Lavara <i>et al.</i> , 2008.
VCL (µm/s)	Velocidad curvilínea	66-117	Farrell <i>et al.</i> , 1993; 1996; Lavara <i>et al.</i> , 2008; Safaa <i>et al.</i> , 2008.
WOB (%)	Índice de oscilación (VAP/VCL)	66,9-67,1	Lavara <i>et al.</i> , 2005; 2008.

Las mediciones mediante los sistemas CASA han permitido recopilar información acerca de los patrones de movimiento de los espermatozoides de conejo. En la Tabla 1 se muestran los valores de algunas de las variables estudiadas por los sistemas CASA en espermatozoides de conejo.

Los espermatozoides de conejo desarrollan patrones de hiperactividad cuando se incuban con sustancias capacitantes durante un periodo de 16-20 horas. Los espermatozoides hiperactivados se caracterizan por presentar cambios fundamentalmente en el índice de linealidad, la velocidad curvilínea, la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza e índice de oscilación (Young *et al.*, 1992). Debido a la discrepancia existente en los distintos sistemas CASA en la estimación de la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH), Young y Bodt (1994) lo desestimaron en los criterios de valoración de hiperactividad y únicamente tuvieron en cuenta VCL, WOB y LIN. Mediante este criterio, los espermatozoides de conejo hiperactivados, mostraron unos valores medios de 137,6 $\mu\text{m/s}$; 24% y 40% para el VCL, LIN y WOB respectivamente (Young and Bodt, 1994). Valores superiores para el caso de VCL, e inferiores para LIN y WOB, cuando los comparamos con los valores de espermatozoides no hiperactivados (Ver Tabla 1).

1.3.2.2.- Formas anormales

El origen de los espermatozoides anormales se puede encontrar a nivel de los túbulos seminíferos o a nivel del epidídimo, y su aparición depende de factores ambientales, genéticos, o de una combinación de ambos. Si su porcentaje es elevado, va acompañado frecuentemente de otros signos de degeneración testicular, como descenso del tamaño y tono testicular, descenso de producción espermática y concentración, y empeoramiento de la motilidad (Barth y Oko, 1989).

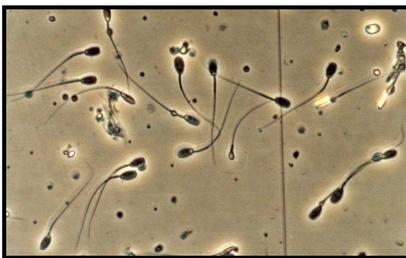


Figura 1: Semen de conejo.

El porcentaje de espermatozoides anormales en un eyaculado, es importante en la preparación de las dosis seminales. Se ha observado en distintas especies, la relación existente entre el incremento de las formas anormales y la pérdida de fertilidad (Correa *et al.*, 1997; Mortimer y Menkveld,

2001; Hallap *et al.*, 2004) o prolificidad (Gadea *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998; Lavara *et al.*, 2005), cuando se insemina con un número de espermatozoides optimizado para incrementar el número de dosis producidas por eyaculado, ya que las formas anormales forman parte del grupo de características seminales que pueden ser compensadas incrementando el número de espermatozoides (Barth y Oko, 1989).

La valoración de la morfología espermática puede ser realizada mediante diversas tinciones (Ver revisión de Kruger *et al.*, 1996), o mediante la fijación de una muestra del eyaculado con formaldehído o glutaraldehído.

Los valores de formas anormales en eyaculados de conejo observados en la bibliografía consultada, muestran un amplio rango de valores situados entre el 6 y el 30% (Williams *et al.*, 1990; Viudes-de-Castro *et al.*, 1999; Arroita *et al.*, 2000; Nizza *et al.*, 2003; Lavara *et al.*, 2005; Mocé *et al.*, 2005; García-Tomás *et al.*, 2006).

1.3.2.3.- Integridad de la membrana acrosomal

El acrosoma juega un papel fundamental en la fecundación y por tanto, es conveniente realizar una valoración específica del mismo. Al igual que ocurre con las formas anormales, existen numerosas tinciones para poder

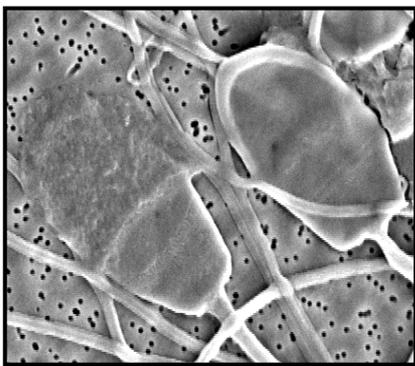


Figura 2: Normalidad acrosómica.

evaluar el estado del mismo (Ver revisión de Kruger *et al.*, 1996). Un método más sencillo, en aquellas especies donde el espermatozoide sea lo suficientemente grande como para permitirlo, es visualizar el estado del acrosoma con un microscopio de contraste de fases fijando previamente la muestra en una solución de glutaraldehído.

De esta forma se distingue el borde apical nítido que se corresponde con el acrosoma, y puede diferenciarse entre acrosomas reaccionados y no reaccionados. Algunos autores han demostrado que la fertilidad de los machos está relacionada directamente con el porcentaje de espermatozoides con acrosomas intactos (Saacke y White, 1972; Zhang *et al.*, 1990). Además la normalidad acrosómica también se ha relacionado con el tamaño de camada en porcino, Holt *et al.* (1997) demostraron que los eyaculados con menor frecuencia de acrosomas reaccionados tras un test de resistencia, dieron lugar a mayores tamaños de camada.

Los valores observados para el porcentaje de espermatozoides con acrosomas intactos en semen fresco de la mayoría de líneas y razas de conejos, es superior al 80% (Vicente *et al.*, 2000; Nizza *et al.*, 2003; Lavara *et al.*, 2005; 2008; García-Tomás *et al.*, 2006; Quintero-Moreno *et al.*, 2007; Safaa *et al.*, 2008), aunque en ocasiones pueden observarse valores inferiores en semen fresco, debido en la mayoría de los casos a causas patológicas y/o a estrés por calor.

1.3.3.- Factores ambientales que influyen sobre la producción y calidad espermática

1.3.3.1.- Condiciones ambientales

La temperatura parece ser el factor que más influye en el descenso de la calidad y producción seminal en la especie cunícola. Temperaturas elevadas (alrededor de los 30°C) provocan una merma en la producción seminal y un incremento en el porcentaje de espermatozoides anormales en el eyaculado (Marai *et al.*, 2002).

Además en los machos de conejo la actividad testicular es sensible a los cambios en el fotoperiodo (Ben Saad, 1997), aconsejándose un fotoperiodo constante de 16 horas de luz y 8 de oscuridad (Theau-Clément *et al.*, 1995; Roca *et al.*, 2005). En lo referente a la intensidad lumínica, no existen diferencias entre una intensidad de 100 ó 200 lux, sobre la libido, producción y calidad seminal en machos adultos (Besenfelder *et al.*, 2004).

Los valores de humedad relativa, también afectan a la correcta espermatogénesis. Finzi *et al.* (2000), observaron que niveles en torno al 85%HR durante 2 semanas, provocan un brusco descenso de la motilidad, concentración, y un empeoramiento del porcentaje de espermatozoides anormales.

1.3.3.2.- Frecuencia y tipo de recuperación

El efecto de la frecuencia de recuperación sobre la cantidad y calidad de semen recuperado, ha sido objeto de numerosos estudios. De los que puede concluirse que el ritmo de dos eyaculados una vez a la semana con un intervalo de tiempo entre ambos de al menos 15 minutos, es el más aconsejado (Bencheikh, 1995; Mocé *et al.*, 2000).

1.3.3.3.- Estado sanitario

La inflamación del tracto reproductivo del macho, disminuye la función testicular y consecuentemente la producción y calidad seminal (O'Bryan *et al.*, 2000). Las características seminales se ven afectadas fundamentalmente por la acción de prostaglandinas y citocinas, que son liberadas como consecuencia del proceso inflamatorio (Knapp, 1990).

1.3.3.4.- Estrategias nutricionales

No existen recomendaciones para la confección de dietas específicas para machos (De Blas y Wiseman, 1998). Los espermatozoides, debido a la composición de su membrana, son muy susceptibles a la peroxidación. Dicha peroxidación, degrada la estructura de la membrana y podría dañar la integridad del DNA del espermatozoide. La acción antioxidante del plasma seminal es la que confiere protección a la membrana del espermatozoide, pero la alimentación puede variar la composición del plasma seminal, y disminuir o aumentar esa acción antioxidante (Castellini *et al.*, 2006a). De esta forma, los machos alimentados con dietas ricas en antioxidantes (vitaminas E y C, Castellini *et al.*, 2000; 2007b), muestran una menor lipoperoxidación a nivel seminal. Además enriquecer la dieta con micronutrientes como el Zn, podría incrementar la producción espermática alrededor de un 22%, en situaciones de estrés por calor (Mocé *et al.*, 2000).

1.4.- PARÁMETROS GENÉTICOS DE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD ESPERMÁTICA

En la bibliografía podemos encontrar trabajos donde se muestra información sobre los parámetros genéticos de variables como la libido, circunferencia escrotal o producción y calidad seminal en las distintas especies de animales de granja. En la Tabla 2 se recoge información sobre diversas especies y variables donde se pueden observar la heterogeneidad de los resultados obtenidos entre especies y dentro de especies, mostrándose resultados dispares entre autores debido principalmente a las diferencias entre las poblaciones y metodologías utilizadas para la estimación de los mismos.

Tabla 2: Heredabilidades (repetibilidades) de las variables relacionadas con la producción seminal.

Especie	Volumen	Nº spz	Motilidad	Referencia
Ovino	0,11	0,27		Rege <i>et al.</i> , 2000
Bovino	0,44	0,54	0,01	Mathevon <i>et al.</i> , 1998
Porcino	0,58	0,22	0,13	Smital <i>et al.</i> , 2005
Bovino	0,09	0,16	0,22	Kealey <i>et al.</i> , 2006
Ovino	0,25-0,30	0,14-0,20	0,03-0,13	David <i>et al.</i> , 2007
Bovino	0,18 (0,29)	0,22 (0,24)	0,04 (0,18)	Grendler <i>et al.</i> , 2007

Nº spz : número de espermatozoides por eyaculado.

Son escasos los trabajos en la especie cunícola donde se recoge información sobre la variabilidad genética de las características seminales ya sean de producción o de calidad seminal y no existen trabajos en los que se estudien las correlaciones genéticas de las características productivas objeto de selección y las características seminales. De los trabajos publicados hasta el momento tan solo uno de ellos muestra valores de heredabilidad de algunas de las variables de producción y calidad seminal (Panella *et al.*, 1994), mientras que el resto de trabajos muestran valores de repetibilidad (Bencheikh, 1995; Brun *et al.*, 2000b; Castellini *et al.*, 2006b; García-Tomás *et al.*, 2006). Estos resultados previos, en concordancia relativa con los obtenidos en otras especies (ver Tabla 2), sugieren que la inclusión de parámetros seminales en las decisiones de selección de las líneas paternas de conejos sería prudente, sobre todo si los machos se destinan a ser utilizados en centros de inseminación artificial. No

obstante, sería necesario realizar trabajos donde se estimasen sus correlaciones genéticas con los parámetros productivos y sus pesos económicos para poder incluirlos en los índices de selección.

2. OBJETIVOS

Estimar los componentes de varianza-covarianza, y los correspondientes parámetros genéticos derivados, de las variables involucradas en la producción seminal, motilidad, calidad y morfometría espermática en una línea paternal de conejos seleccionada por la ganancia diaria post-destete.

Estudiar las correlaciones genéticas existentes entre las características seminales y la ganancia media diaria en la línea de conejos anteriormente mencionada.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS SEMINALES

3.1.1.- Material animal

La línea R es una línea paternal de conejos, seleccionada durante 25 generaciones por ganancia media diaria entre los 28 y los 63 días de edad (GMD, g/día). El intervalo generacional es de 6 meses y la respuesta estimada es de 0,5 g/día y generación (Estany *et al.*, 1992; Piles y Blasco, 2003).

Para el análisis de las variables seminales, se utilizaron 412 machos pertenecientes a la línea anteriormente descrita, todos ellos pertenecientes a la generación 25 de selección.

Para el análisis de la ganancia media diaria, se utilizaron los datos registrados desde la generación 18 hasta la generación 25 de selección de la misma línea. La genealogía estaba compuesta por un total de 14700 individuos.

3.1.2.- Condiciones ambientales y de manejo de los animales

Los machos utilizados en el experimento estaban alojados en tres núcleos de selección-multiplicación diferentes.

Núcleo A: La granja de mejora genética animal de la Universidad Politécnica de Valencia.

Núcleo B: El centro de multiplicación-inseminación de la empresa SERGA, localizado en la comarca de Los Serranos, en la provincia de Valencia.

Núcleo C: El centro de selección-multiplicación-inseminación de la cooperativa CUNIZAR, situado en la localidad de Zarzadilla de Totana en la provincia de Murcia.

Todos los machos utilizados en el presente trabajo estaban sometidos a un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad. La alimentación y el suministro de agua era *ad libitum*.



Figura 3: Detalle granja Universidad Politécnica Valencia.

Una vez seleccionados se alojaban en jaulas individuales hasta que los individuos alcanzaban los 150-170 días de edad. A esa edad los animales comenzaban el periodo de entrenamiento con vagina artificial, que se extendía durante 2 semanas. El ritmo de recuperación fue de dos eyaculados por semana, recuperados el mismo día con un intervalo de tiempo entre eyaculados de 20 minutos. Una vez transcurrido el periodo de entrenamiento, a los machos se les tomaron

muestras en dos periodos diferentes:

-Periodo A: una semana después de finalizado el periodo de entrenamiento.

-Periodo B: al menos 3 meses después de finalizado el periodo A.

En cada uno de los periodos se analizaron por separado cada uno de los dos eyaculados recogidos por macho.

3.1.3.- Recuperación y valoración seminal

3.1.3.1.- Recuperación del semen

La recuperación del semen se realizó mediante el método de la vagina artificial (Figura 4), ya que permite utilizar temperaturas y presiones adecuadas para estimular la eyaculación de los machos.



Figura 4: Vagina artificial y tubo colector.

La temperatura de la vagina en el momento de la recuperación del eyaculado era en torno a 50°C. El tubo colector se protegía de la luz y de la temperatura ambiente durante la recogida. Para la recuperación, los machos

fueron estimulados con una hembra.

3.1.3.2.- Valoración del semen

Tras la recogida del semen, los tubos colectores que contenían los eyaculados eran trasladados inmediatamente al laboratorio donde se procedía a su valoración macroscópica, a la toma de imágenes y a la fijación de las distintas muestras para su posterior análisis.

A- Características macroscópicas

La valoración de las características macroscópicas (aspecto del eyaculado y volumen) se realizó en las muestras de semen recién recuperado. El examen macroscópico del aspecto se realizó con el objetivo de eliminar aquellos eyaculados que presentaban una apariencia anómala (coloración diferente de blanco-nacarado, o presencia de precipitados). El volumen se determinó mediante el uso de una pipeta automática.

Una vez obtenidos los eyaculados útiles, se procedió a la toma de muestras para realizar los posteriores análisis.

Para ello se tomaron dos tipos de muestras diferentes:

Muestra 1: Se tomó una alícuota del eyaculado y se diluyó (1:20) con tris-cítrico-glucosa (pH: 6,8; 300mOsmkg⁻¹).

Muestra 2: Se tomó una alícuota del eyaculado y se diluyó (1:50) con glutaraldehído 2%.

B.- Características microscópicas.

B.1.- Motilidad y parámetros cinéticos del semen:

La motilidad se determinó con la ayuda del Sperm Class Analyzer (SCA, Microptic Barcelona). Para ello se tomaron 10 µl de la Muestra 1, se colocaron en una cámara Makler sobre una pletina termostatada a 37°C bajo un microscopio con contraste de fases a 100X aumentos conectado a una cámara de vídeo digital y al software indicado anteriormente, y se procedió a la toma de imágenes. Las características cinéticas y de motilidad fueron analizadas en al menos, 4 campos.

Las características analizadas fueron:

MOT: Porcentaje de motilidad (%), que se define como el número de espermatozoides móviles, respecto del total.

VCL: Velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$), que se define como la velocidad media medida punto a punto sobre el recorrido de la cabeza espermática. Se refiere a la distancia total que la cabeza del espermatozoide cubre en el período de observación. Es siempre el mayor de los tres parámetros de velocidad.

VSL: Velocidad rectilínea ($\mu\text{m/s}$), velocidad media medida en una línea recta desde el principio hasta el final de la trayectoria recorrida. Se determina como la distancia en línea recta entre el primero y el último punto de la trayectoria y da el espacio recorrido en el período de observación. Es siempre el menor de los tres parámetros de velocidad en cualquier espermatozoide.

VAP: Velocidad lineal ($\mu\text{m/s}$), velocidad media del recorrido del espermatozoide. Se determina como la distancia que el espermatozoide ha seguido en su trayectoria durante el período de observación. Este es conceptualmente, el valor de velocidad más difícil de entender porque puede parecer similar a la VSL.

LIN: Índice de linealidad (%). Estima la proximidad de las trayectorias de las células espermáticas a una línea recta. Se calcula como el cociente entre la velocidad media medida en una línea recta (VSL) y la velocidad media medida punto a punto a lo largo del recorrido (VCL) $\rightarrow (VSL / VCL) \times 100$.

STR: Índice de rectitud (%). Estima la proximidad del recorrido seguido por las células espermáticas a una línea recta. Se calcula como cociente entre la velocidad media medida en una línea recta desde el primer punto hasta el último de la trayectoria recorrida (VSL) y la velocidad media del recorrido del espermatozoide (VAP) $\rightarrow (VSL / VAP) \times 100$.

WOB: Índice de oscilación (%). Estima la relación entre la trayectoria recorrida por el espermatozoide y la oscilación de la cabeza espermática. Se calcula como cociente entre la velocidad media del recorrido del espermatozoide (VAP) y la velocidad media medida punto a punto sobre el recorrido de la cabeza espermática (VCL) $\rightarrow (VAP / VCL) \times 100$.

ALH: Amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (μm). Es el desplazamiento medio efectuado por la cabeza del espermatozoide en su trayectoria curvilínea de un lado a otro de la trayectoria media o lineal.

B.2.- Concentración:

La determinación del número de espermatozoides por mililitro se realizó por recuento en una cámara de Thoma (Figura 5). Una alícuota de la muestra 2, se depositaba en la cámara Thoma con la ayuda de una pipeta Pasteur y se iniciaba el recuento de las diagonales. La concentración de espermatozoides por mililitro era el resultado de multiplicar el número de espermatozoides en 40 cuadrados por el factor de dilución (50), y por el factor de la cámara empleada (100.000).

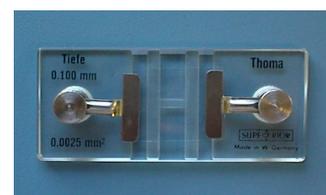


Figura 5: Cámara Thoma para recuento espermático.

B.3.- Formas anormales y estado del acrosoma:

El control de las formas anormales y la estructura acrosómica se realizó con un microscopio dotado de contraste de fases a 400X. La morfología espermática se valoró mediante recuento de al menos 100 espermatozoides (muestra 2) y el resultado se expresó en porcentaje, reflejando el número de espermatozoides morfológicamente anormales.

Simultáneamente se efectuó sobre la misma muestra el control sobre el estado de los acrosomas. El criterio utilizado para determinar el estado del acrosoma se basó en la observación del borde apical del mismo, distinguiendo entre acrosomas reaccionados y acrosomas sin reaccionar. El resultado se expresó en porcentaje, reflejando el número de espermatozoides con acrosomas sin reaccionar.

B.4.- Morfometría de la cabeza del espermatozoide:

Para realizar los análisis morfométricos se utilizaron 10 μl de la muestra 2, que se colocaron entre un porta y un cubreobjetos (20mmx20mm). Los portas se examinaron con un microscopio de contraste de fases a 400X, sobre el que estaba acoplada una cámara Sony CCD AVC-D7CE (Sony Corporation, Tokyo, Japan) que estaba conectada al módulo de morfometría del software SCA. Durante todo el proceso de toma de las imágenes de las cabezas de los espermatozoides se utilizó la misma intensidad de luz y el mismo contraste óptico, y únicamente se consideraron para el análisis aquellos espermatozoides que morfológicamente eran normales.

De cada uno de los espermatozoides capturados se analizaron cuatro parámetros principales de la cabeza:

-Área de la cabeza del espermatozoide (**AREA**, μm^2)

-Perímetro de la cabeza del espermatozoide (**PERI**, μm)

-Longitud de la cabeza del espermatozoide (**LONG**, μm)

-Anchura de la cabeza del espermatozoide (**ANCH**, μm)

3.1.4.- Análisis estadístico

Se utilizó un modelo animal bivalente para las variables seminales y la ganancia media diaria. El modelo mixto utilizado para todas las variables seminales propuestas fue el siguiente:

$$y_{ijokln} = \mu + S_i + O_j + P_o + a_k + p_k + c_l + e_{ijokln}$$

donde y_{ijokln} es la variable seminal, μ es la media general, S_i es el efecto fijo núcleo-año estación con 64 niveles, O_j es el efecto fijo orden de eyaculado con 2 niveles (primero o segundo eyaculado), P_o es el efecto fijo edad del macho (<6 meses, 6-8 meses, >8 meses), a_k es el valor genético aditivo del macho, p_k es el efecto permanente y genético no aditivo del macho k sobre todos sus eyaculados, c_l es el efecto aleatorio de la camada en la que el animal k ha nacido y e_{ijokln} es el residual.

El modelo mixto utilizado para la variable ganancia media diaria (GMD) fue el siguiente:

$$y_{ijklm} = \mu + b \cdot LS + YS_i + OP_j + a_k + p_k + c_l + e_{ijklm}$$

donde y_{ijklm} es la GMD, μ es la media general, LS es la covariable tamaño de camada al nacimiento, b es el coeficiente de regresión de la anterior sobre la GMD, YS_i es el efecto fijo año-estación con 30 niveles, OP_j es el efecto fijo orden de parto en el que el animal ha nacido con 3 niveles (1, 2, >2 partos), a_k es el valor aditivo del animal, p_k es el efecto permanente y genético no aditivo

del animal k (parte del residual correlacionado con el permanente de la variable seminal), c_i es el efecto aleatorio de la camada en la que el animal k ha nacido y e_{ijklm} es el residual (parte del residual no correlacionado con ningún otro efecto aleatorio de las variables seminales).

Es necesario considerar por un lado, en el modelo de la GMD, el efecto permanente y por otro lado, en el modelo de las variables seminales, el efecto de camada común, para así tener una mejor conexión entre ambos modelos, y poder asumir que la covarianza entre residuales sea cero, además de poder estimar las respectivas correlaciones entre efectos aleatorios homólogos (r_g , r_p y r_c).

Los componentes de varianza y covarianza fueron estimadas utilizando una aproximación bayesiana implementada en el programa informático TM desarrollado por Legarra *et al.* (2008). Para los modelos se realizaron un total de 1000000 iteraciones con un periodo de quemado de 100000 iteraciones. Se tomó una muestra de cada 100 iteraciones, para evitar la alta correlación entre muestras consecutivas. La convergencia se comprobó para cada cadena separadamente usando el criterio Z de Geweke.

4. RESULTADOS

En la Tabla 3, se muestran el número de datos, las medias y desviaciones típicas de la ganancia media diaria (GMD, g/d) y de las variables seminales implicadas en la producción seminal como son la concentración (CONC, millones de espermatozoides/mL), volumen del eyaculado (VOL, mL) y número de espermatozoides por eyaculado (SPZ, millones de espermatozoides/eyaculado), donde puede observarse la gran variabilidad existente en las variables seminales.

Tabla 3: Análisis descriptivo de las variables implicadas en la producción seminal y la ganancia media diaria.

	Datos (n)	Media	Desviación típica
GMD (g/d)	12908	46,2	6,9
VOL (mL)	2329	0,59	0,36
CONC (10⁶spz/mL)	2297	190,9	154,9
SPZ (10⁶spz)	2297	107	110

n: número de datos. GMD: ganancia media diaria (g/d). VOL: volumen del eyaculado (mL). CONC: millones de espermatozoides/mL. SPZ: nº espermatozoides por eyaculado.

En la Tabla 4 se muestran el número de datos y los resultados de los análisis descriptivos de la motilidad espermática (MOT, %) y de las características cinéticas de los espermatozoides móviles: velocidad lineal (VAP, $\mu\text{m/s}$), velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m/s}$), velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), índice de linealidad (LIN, %), índice de rectitud (STR, %), índice de oscilación (WOB, %) y amplitud del desplazamiento lateral (ALH, μm).

Tabla 4: Análisis descriptivo de la motilidad y las características cinéticas del semen.

	Datos (n)	Media	Desviación típica
MOT (%)	2231	65,0	27,4
VAP ($\mu\text{m/s}$)	2083	58,1	16,1
VSL ($\mu\text{m/s}$)	2083	48,5	16,1
VCL ($\mu\text{m/s}$)	2083	84,3	19,6
LIN (%)	2083	59,5	15,8
ALH (μm)	2083	3,2	1,1
WOB (%)	2083	69,9	12,7
STR (%)	2083	80,7	11,2

n: número de datos. MOT: motilidad, VAP: velocidad lineal; VSL: velocidad rectilínea; VCL: velocidad curvilínea; LIN: índice de linealidad; STR: índice de rectitud; WOB: índice de oscilación; ALH: amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide.

De igual forma en la Tabla 5 se muestran el número de datos, la media y desviación típica, de las variables explicativas de la calidad morfológica y morfométrica de los espermatozoides de conejo: normalidad acrosómica (NAR,

%), porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR, %), anchura de la cabeza del espermatozoide (ANCH, μm), área de la cabeza del espermatozoide (AREA, μm^2), longitud de la cabeza del espermatozoide (LONG, μm) y perímetro de la cabeza del espermatozoide (PERI, μm). Destacar, la menor variabilidad existente entre las variables morfométricas (Tabla 5), en comparación con las variables de producción seminal (Tabla 3), o las variables derivadas de la cantidad y calidad del movimiento del espermatozoide (Tabla 4), exceptuando el porcentaje de espermatozoides anormales cuyo coeficiente de variación (13,2/17) es 0,78.

Tabla 5: Análisis descriptivo de la normalidad acrosómica, porcentaje de espermatozoides anormales, y morfometría de la cabeza del espermatozoide.

	Datos (n)	Media	Desviación típica
NAR (%)	2225	87,6	15,1
ANOR (%)	2225	17,0	13,2
ANCH (μm)	1795	4,7	0,2
AREA (μm^2)	1795	31,9	1,7
LONG (μm)	1795	8,5	0,2
PERI (μm)	1795	23,9	1,0

n: número de datos; Nar: normalidad acrosómica; ANOR: espermatozoides anormales; ANCH: anchura de la cabeza de espermatozoide; AREA: área de la cabeza del espermatozoide; LONG: longitud de la cabeza del espermatozoide; PERI: perímetro de la cabeza del espermatozoide.

Las Tablas 6, 7 y 8 muestran los estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), de los efectos genéticos no aditivos (p^2) y de los efectos de camada común (c^2) de la ganancia media diaria y de las variables seminales estudiadas. Para todas las distribuciones marginales posteriores estudiadas, el error de Monte Carlo fue

pequeño, el resultado del test Z de Geweke no sugirió falta de convergencia y las distribuciones en la mayoría de los casos se asemejaban a una normal.

De la heredabilidad (h^2) de las variables implicadas en la producción seminal el valor más elevado lo presenta el volumen del eyaculado (p.m.: 0,13 p.s.d.: 0,05; Tabla 6), siendo 0,05 el valor para el que la probabilidad de tener h^2 superiores es 0,95 (valor mínimo al 95%). En cuanto a la proporción de la varianza de los efectos permanentes no aditivos (p^2) y de los efectos de camada común (c^2) las medias posteriores y los valores mínimos al 95% son inferiores a los correspondientes de la h^2 . Sin embargo esto mismo no ocurre con el número de espermatozoides por eyaculado o con la concentración espermática, donde los correspondientes estadísticos de p^2 son superiores a los de h^2 , pero los de c^2 siguen siendo inferiores (Tabla 6).

Para las variables relacionadas con la morfología y morfometría de los espermatozoides la media posterior de h^2 es superior a la observada para el resto de las variables analizadas (Tabla 7). Destacar que las medidas de la cabeza del espermatozoide presentan h^2 intermedias (p.m.: 0,20-0,29; p.s.d.: 0,06-0,07) con valores mínimos al 95% comprendidos entre el 0,11 y 0,19. De igual manera destacar la h^2 que presenta el porcentaje de espermatozoides anormales (p.m.: 0,19; p.s.d.:0,05 y valor mínimo al 95% de 0,10). En cuanto a p^2 y c^2 , similarmente a lo que ocurría con las variables implicadas en la producción espermática, p^2 muestra un valor mínimo al 95% superior que c^2 (Tabla 7).

La motilidad espermática y la calidad del movimiento de los espermatozoides presentan h^2 semejantes (p.m.:0,12-0,09; p.s.d.:0,04-0,05), con valores mínimos al 95% de 0,05 para la motilidad espermática y de 0,04-0,03 para las variables implicadas en la calidad del movimiento de los espermatozoides (Tabla 8). Los p^2 y c^2 siguen la misma pauta que en las variables implicadas en la morfología y morfometría espermática (Tabla 8).

Tabla 6: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para la ganancia media diaria (GMD), volumen del eyaculado (VOL), nº de espermatozoides por eyaculado (SPZ) y concentración espermática por eyaculado (CONC).

	h^2				p^2				c^2			
	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%
GMD	0,18	0,03	[0,12 0,23]	0,13	0,27	0,12	[0,06 0,48]	0,07	0,27	0,01	[0,25 0,30]	0,25
Vol	0,13	0,05	[0,04 0,23]	0,05	0,09	0,04	[0,02 0,17]	0,03	0,05	0,03	[0,01 0,10]	0,01
SPZ	0,07	0,03	[0,01 0,12]	0,02	0,06	0,03	[0,02 0,13]	0,03	0,04	0,02	[0,01 0,08]	0,01
CONC	0,08	0,04	[0,01 0,17]	0,03	0,11	0,04	[0,04 0,20]	0,05	0,07	0,04	[0,01 0,14]	0,02

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%. Min95%: Valor para el que la probabilidad de valores superiores es del 95%.

Tabla 7: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para las variables porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR), normalidad acrosómica (NAR), longitud de la cabeza del espermatozoide (LONG), perímetro de la cabeza del espermatozoide (PERI), área de la cabeza del espermatozoide (AREA) y anchura de la cabeza del espermatozoide (ANCH).

	h^2				p^2				c^2			
	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%
ANOR	0,19	0,05	[0,08 0,29]	0,10	0,14	0,05	[0,05 0,23]	0,07	0,08	0,04	[0,01 0,15]	0,02
NAR	0,18	0,05	[0,09 0,27]	0,10	0,10	0,04	[0,02 0,18]	0,04	0,05	0,03	[0,01 0,10]	0,01
LONG	0,25	0,07	[0,11 0,39]	0,14	0,18	0,06	[0,06 0,30]	0,08	0,06	0,04	[0,01 0,13]	0,01
PERI	0,29	0,06	[0,18 0,41]	0,19	0,10	0,04	[0,02 0,17]	0,03	0,06	0,04	[0,01 0,13]	0,01
AREA	0,20	0,06	[0,09 0,31]	0,11	0,11	0,05	[0,02 0,19]	0,04	0,06	0,04	[0,01 0,13]	0,01
ANCH	0,28	0,07	[0,14 0,43]	0,16	0,09	0,04	[0,01 0,17]	0,03	0,12	0,06	[0,02 0,23]	0,04

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%. Min95%: Valor para el que la probabilidad de valores superiores es del 95%.

Tabla 8: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad (h^2), proporción de la varianza de efectos permanentes (p^2) y de camada común (c^2), para la motilidad espermática (MOT) y las variables que definen la calidad del movimiento de los espermatozoides móviles.

	h^2				p^2				c^2			
	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%	PM	PSD	HPD95%	Min95%
VAP	0,09	0,04	[0,01 0,17]	0,03	0,04	0,02	[0,01 0,09]	0,01	0,08	0,03	[0,01 0,14]	0,03
VSL	0,11	0,05	[0,02 0,20]	0,03	0,06	0,03	[0,01 0,11]	0,01	0,07	0,03	[0,01 0,13]	0,02
VCL	0,10	0,04	[0,02 0,18]	0,04	0,04	0,02	[0,01 0,08]	0,01	0,07	0,03	[0,01 0,13]	0,02
LIN	0,11	0,04	[0,03 0,20]	0,04	0,08	0,04	[0,01 0,15]	0,02	0,05	0,03	[0,01 0,11]	0,02
ALH	0,11	0,04	[0,03 0,19]	0,04	0,11	0,04	[0,03 0,18]	0,05	0,03	0,02	[0,01 0,08]	0,01
WOB	0,11	0,04	[0,04 0,19]	0,05	0,07	0,04	[0,01 0,13]	0,02	0,07	0,04	[0,01 0,14]	0,02
STR	0,11	0,04	[0,03 0,19]	0,04	0,07	0,03	[0,01 0,13]	0,02	0,03	0,02	[0,01 0,07]	0,01
MOT	0,12	0,04	[0,04 0,20]	0,05	0,10	0,04	[0,03 0,17]	0,04	0,05	0,03	[0,01 0,11]	0,01

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%. Min95%: Valor para el que la probabilidad de valores superiores es del 95%. VAP: velocidad lineal ($\mu\text{m/s}$), VSL: velocidad rectilínea ($\mu\text{m/s}$), VCL: velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$), LIN: índice de linealidad (%), STR: índice de rectitud (%), WOB: índice de oscilación (%), ALH: amplitud del desplazamiento lateral (μm).

Las Tablas 9, 10 y 11 muestran los estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada común (r_c), entre la ganancia media diaria y las características seminales estudiadas, que presentaron errores de Monte Carlo pequeños y el resultado del test Z de Geweke no mostró falta de convergencia para las cadenas estudiadas.

Para la r_g , r_p y r_c , entre la ganancia media diaria y las características seminales indicar que los intervalos de HPD95% son más amplios que los obtenidos para la h^2 , p^2 y c^2 , indicando el mayor grado de incertidumbre asociado a su estimación, debido en la mayor parte de los casos a los bajos valores de h^2 , p^2 y c^2 que presentan algunas de las variables seminales y que, por tanto, necesitan un mayor número de datos para estimarlas de forma más precisa (Tablas 9, 10 y 11).

Destacar que las r_g de las variables motilidad, normalidad acrosómica, anchura, área y perímetro de la cabeza del espermatozoide con la ganancia media diaria, presentaron correlaciones genéticas intermedias (MOT-GMD, p.m.: -0,53; NAR-GMD, p.m.: -0,40; ANCH-GMD, p.m.: -0,43; AREA-GMD, p.m.: -0,32; PERI-GMD, p.m.: -0,34; Tablas 10 y 11), con una probabilidad de ser inferiores a 0 elevada (entre 0,88 y 0,97). A su vez, destacar, de igual forma, la correlación genética entre el volumen y la ganancia media diaria (VOL-GMD, p.m.: 0,36; $P>0$: 0,83; Tabla 9).

Tabla 9: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre la ganancia media diaria (GMD) y las variables volumen (VOL), concentración (CONC) y número de espermatozoides por eyaculado (SPZ).

	r_g				r_p				r_c			
	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P
VOL-GMD	0,36	0,34	[-0,26 0,96]	0,83	0,10	0,42	[-0,72 0,86]	0,62	-0,35	0,35	[-0,99 0,24]	0,85
CONC-GMD	-0,09	0,39	[-0,85 0,65]	0,60	-0,51	0,29	[-0,99 0,01]	0,95	0,13	0,28	[-0,43 0,69]	0,67
SPZ-GMD	0,17	0,40	[-0,51 0,98]	0,66	-0,31	0,37	[-0,99 0,36]	0,79	-0,02	0,34	[-0,70 0,69]	0,52

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%, P: probabilidad de que r_i sea >0 (<0) cuando PM de r_i es >0 (<0), para $i=g, p, c$.

Tabla 10: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre la ganancia media diaria y las variables relacionadas con la cantidad y calidad del movimiento espermático.

	r_g				r_p				r_c			
	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P
MOT-GMD	-0,53	0,28	[-0,95 0,02]	0,95	-0,34	0,31	[-0,88 0,22]	0,87	-0,06	0,36	[-0,85 0,70]	0,61
VCL-GMD	-0,11	0,26	[-0,61 0,41]	0,49	-0,33	0,38	[-0,98 0,38]	0,72	0,17	0,24	[-0,30 0,63]	0,72
VAP-GMD	0,03	0,29	[-0,55 0,57]	0,51	-0,12	0,42	[-0,96 0,62]	0,65	-0,02	0,21	[-0,44 0,38]	0,55
VSL-GMD	0,01	0,28	[-0,53 0,56]	0,51	-0,13	0,39	[-0,93 0,59]	0,67	-0,13	0,24	[-0,58 0,35]	0,72
LIN-GMD	-0,02	0,28	[-0,56 0,50]	0,54	0,14	0,36	[-0,51 0,85]	0,65	-0,47	0,27	[-0,99 -0,02]	0,96
ALH-GMD	-0,02	0,30	[-0,49 0,48]	0,54	-0,25	0,28	[-0,83 0,25]	0,82	0,36	0,37	[-0,24 0,99]	0,82
STR-GMD	-0,14	0,28	[-0,68 0,38]	0,70	-0,20	0,35	[-0,94 0,41]	0,75	-0,53	0,31	[-0,99 0,01]	0,95
WOB-GMD	0,09	0,29	[-0,45 0,69]	0,61	0,27	0,42	[-0,48 0,99]	0,76	-0,46	0,26	[-0,99 -0,05]	0,97

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%, P: probabilidad de que r_i sea >0 (<0) cuando PM de r_i es >0 (<0), para $i=g, p, c$. GMD: ganancia media diaria (g/d), VAP: velocidad lineal ($\mu\text{m/s}$), VSL: velocidad rectilínea ($\mu\text{m/s}$), VCL: velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$), LIN: índice de linealidad (%), STR: índice de rectitud (%), WOB: índice de oscilación (%), ALH: amplitud del desplazamiento lateral (μm).

Tabla 11: Estadísticos descriptivos de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas (r_g), de efectos permanentes (r_p) y de camada de origen (r_c) entre las variables seminales, porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR), normalidad acrosómica (NAR), longitud de la cabeza del espermatozoide (LONG), perímetro de la cabeza del espermatozoide (PERI), área de la cabeza del espermatozoide (AREA), anchura de la cabeza del espermatozoide (ANCH) y la ganancia media diaria (GMD).

	r_g				r_p				r_c			
	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P	PM	PSD	HPD95%	P
NAR-GMD	-0,40	0,20	[-0,78 -0,02]	0,97	0,12	0,36	[-0,53 0,94]	0,94	-0,02	0,30	[-0,62 0,61]	0,54
ANOR-GMD	0,25	0,22	[-0,18 0,66]	0,87	-0,06	0,31	[-0,77 0,54]	0,60	-0,19	0,25	[-0,69 0,33]	0,78
ANCH-GMD	-0,43	0,22	[-0,84 0,01]	0,97	-0,51	0,33	[-0,99 0,11]	0,93	-0,09	0,25	[-0,58 0,43]	0,65
AREA-GMD	-0,32	0,26	[-0,86 0,14]	0,88	-0,10	0,42	[-0,99 0,68]	0,61	0,10	0,37	[-0,48 0,99]	0,60
LONG-GMD	-0,09	0,27	[-0,60 0,42]	0,63	-0,35	0,34	[-0,99 0,25]	0,86	0,09	0,40	[-0,56 0,99]	0,57
PERI-GMD	-0,34	0,21	[-0,74 0,06]	0,94	-0,65	0,27	[-0,99 -0,14]	0,97	-0,01	0,37	[-0,76 0,81]	0,53

PM: media posterior. PSD: desviación típica posterior. HPD95%: intervalo mínimo de máxima densidad a 95%, P: probabilidad de que r_i sea >0 (<0) cuando PM de r_i es >0 (<0), para $i=g, p, c$.

En el caso de las r_p , aquellas que presentan un valor intermedio, presentan probabilidades altas de ser negativas, como CONC-GMD (p.m.: -0,51; P<0: 0,95; Tabla 9), SPZ-GMD (p.m.: -0,31; P<0: 0,79; Tabla 9), MOT-GMD (p.m.: -0,34; P<0: 0,87; Tabla 10), VCL-GMD (p.m.: -0,33; P<0: 0,72; Tabla 10), ANCH-GMD (p.m.: -0,51; P<0: 0,97; Tabla 11), LONG-GMD (p.m.: -0,35; P<0: 0,86; Tabla 11) y PERI-GMD (p.m.: -0,65; P<0: 0,97; Tabla 11).

Las r_c , en general son pequeñas y únicamente presentan un valor intermedio las existentes entre el volumen del eyaculado, los índices de rectitud, linealidad, oscilación y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide, con la ganancia media diaria, VOL-GMD (p.m.: -0,35; P<0: 0,85; Tabla 9), LIN-GMD (p.m.: -0,47; P<0: 0,96; Tabla 10), ALH-GMD (p.m.: 0,36; P>0: 0,82; Tabla 10), STR-GMD (p.m.: -0,53; P<0: 0,95; Tabla 10), WOB-GMD (p.m.: -0,46; P<0: 0,97; Tabla 10).

5. DISCUSIÓN

En especies prolíficas como el cerdo y el conejo, la selección de reproductores se ha centrado en caracteres relacionados con la producción cárnica en el caso de líneas paternas y en caracteres reproductivos como el tamaño de camada en el caso de líneas maternas. En conejo la selección por caracteres reproductivos se ha centrado en el tamaño de camada al destete, mientras que en porcino, también se ha seleccionado por otros caracteres como la tasa de ovulación o la supervivencia prenatal. Lo que ha conllevado a la existencia de numerosos trabajos basados en la estimación de los componentes de varianza de dichos caracteres. Por el contrario, no ocurre lo mismo con los caracteres reproductivos de los machos, donde la bibliografía que puede consultarse está fundamentada básicamente en los caracteres que presentan una mayor repetibilidad como son la concentración espermática o el volumen del eyaculado.

Con el actual uso de los machos terminales en cunicultura, donde el 81,5% de los gazapos vendidos en España proceden de inseminación artificial (MMA, 2009), el conocer cómo influye la selección por caracteres de crecimiento sobre la capacidad reproductiva del macho es de interés, ya que el semen que se utiliza en las granjas comerciales proviene de los machos seleccionados por los citados caracteres. En los centros de inseminación artificial, la capacidad productiva del macho cárnico no se mide únicamente por la velocidad de crecimiento que es capaz de transmitir a su progenie sino también, por el número de dosis de inseminación útiles que es capaz de generar para su posterior inseminación en las granjas comerciales, con una

calidad espermática que garantice que la fertilidad y prolificidad de las hembras no se vea comprometida.

Las variables que intervienen en la producción seminal son el volumen y la concentración espermática. En el presente trabajo, las medias obtenidas para el volumen son semejantes a las obtenidas por diferentes autores en machos seleccionados por el mismo objetivo (Brun *et al.*, 2006; Lavara *et al.*, 2007; 2008; Quintero-Moreno *et al.*, 2007; Safaa *et al.*, 2008).

Por el contrario, para la variable concentración y, por ende, para la producción espermática, las medias obtenidas son semejantes a las observadas para la línea R en trabajos previos ($145\text{-}206 \times 10^6 \text{spz/mL}$, Lavara *et al.*, 2007; 2008; Safaa *et al.*, 2008), pero inferiores a las observadas en otras líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento ($245\text{-}738 \times 10^6 \text{spz/mL}$, Brun *et al.*, 2006; García-Tomás *et al.*, 2006; Quintero-Moreno *et al.*, 2007). En la bibliografía se puede observar la variabilidad existente entre distintas estirpes o líneas genéticas seleccionadas por distintos objetivos para las citadas variables. De los resultados obtenidos del estudio de las variables implicadas en la producción espermática, puede observarse que las heredabilidades del volumen, concentración y nº de espermatozoides por eyaculado ($h^2 = 0,13$; $0,08$; $0,07$; para el VOL, CONC y SPZ, respectivamente, Tabla 6), son inferiores a las observadas por Panella *et al.* (1994) sobre 158 machos adultos de conejo (raza Neozelandés Blanco) que habían pasado la prueba de testaje ($h^2 = 0,44$ y $0,60$, para las variables volumen y concentración), debido probablemente a la distinta población y a que los modelos planteados no son los mismos. Sin embargo, las heredabilidades obtenidas son comparables a las observadas en otras especies (en toros: $0,09$ y $0,16$, para el volumen y concentración, Kealey *et al.*, 2006; en porcino: $0,14\text{-}0,18$; $0,14\text{-}0,26$; $0,17\text{-}0,25$; para el volumen, concentración y nº de espermatozoides por eyaculado Brandt y Grandjot, 1998, Smital *et al.*, 2005). Si calculamos la repetibilidad obtenida en el presente estudio como la suma de la h^2 , c^2 y p^2 , los valores obtenidos para el volumen ($0,27$), número de espermatozoides por eyaculado ($0,17$) y concentración por eyaculado ($0,26$), son de igual magnitud que las observadas

por Castellini *et al.* (2006b) (0,17 y 0,22 para la concentración y el nº de espermatozoides por eyaculado, respectivamente), sin embargo son ligeramente inferiores a las observadas por Bencheik (1995) y García-Tomás *et al.* (2006) que se sitúan en torno al 0,3-0,4.

Del estudio de las correlaciones genéticas, de efectos permanentes y de efectos de camada común entre la GMD, VOL, CONC y SPZ, destacar la correlación genética entre GMD y VOL (0,36; Tabla 9), y la correlación entre efectos de camada común, negativa, entre GMD-VOL (-0,35; Tabla 9). Por otra parte, la correlación entre los efectos permanentes entre GMD-CONC es intermedia y de signo negativo (-0,51; Tabla 9), al igual que ocurre con la correlación entre efectos permanentes entre GMD-SPZ (-0,31; Tabla 9). Los resultados de las correlaciones genéticas son comparables a las obtenidas en cerdos donde la correlación genética de la ganancia media diaria con las variables de producción seminal (concentración y nº de espermatozoides por eyaculado) son de pequeño valor y en ocasiones no difieren de cero (Oh *et al.*, 2006). También serían comparables para el volumen donde se han observado correlaciones favorables entre el volumen del eyaculado y el crecimiento (Brandt y Grandjot, 1998), al igual que en ganado vacuno, donde algunos autores han predicho que toros genéticamente seleccionados para caracteres de crecimiento darán lugar a hijos con testículos de mayor circunferencia escrotal y con la capacidad de producir mayores cantidades de semen que la media de la población (Smith *et al.*, 1989, Knights *et al.*, 1984). De igual forma los resultados obtenidos para la correlación genética entre el nº de espermatozoides por eyaculado y la ganancia media diaria siguen la misma pauta que los obtenidos en ratón por Johnson y Eisen (1975), donde encontraron una menor eficiencia de la producción espermática en una línea de ratón seleccionada por velocidad de crecimiento tras destete. No obstante, las correlaciones obtenidas en el presente trabajo muestran unos HPD95% amplios por lo que los resultados han de ser tomados con cautela.

La motilidad que presenten los espermatozoides así como la calidad de su movimiento serán fundamentales a la hora de poder obtener unos

resultados de fertilidad y prolificidad adecuados tras la inseminación de las hembras. La motilidad espermática y la detección de patrones de movimientos hiperactivos en espermatozoides son características que en la actualidad son de utilidad para predecir el potencial del espermatozoide para moverse a través del tracto de la hembra y penetrar el ovocito. La motilidad espermática es una medida indirecta de la viabilidad espermática, ya que únicamente los espermatozoides vivos pueden presentar motilidad, y puede ser determinada de manera subjetiva mediante valoración visual bajo microscopio, y de manera más objetiva mediante el uso de los sistemas CASA. Flowers (1997) mostró cómo el porcentaje de espermatozoides móviles únicamente proporciona una estima cuantitativa de la fertilidad y su uso puede ser útil en la predicción de la fertilidad de las dosis seminales en ganado porcino, cuando la motilidad es inferior al 60%. De igual forma, Tardif *et al.* (1999) mostraron que cuando se inseminan hembras con un número limitado de espermatozoides en la dosis de inseminación, la motilidad puede relacionarse de forma alta y positiva con el porcentaje de partos, ya que la motilidad es una característica compensable y los problemas derivados de ella pueden eliminarse inseminando con un mayor número de espermatozoides siempre dentro de unos límites razonables.

El uso en la actualidad de los nuevos sistemas automáticos de análisis de la motilidad espermática, proporciona más información sobre la calidad del movimiento espermático de forma objetiva y repetible (Verstenger *et al.*, 2002).

Existen estudios que han investigado qué características de la cinética del movimiento de los espermatozoides de conejo pueden estar relacionadas con la futura fertilidad en granja (Hagen *et al.*, 2003; Lavara *et al.*, 2005; Quintero-Moreno *et al.*, 2007), dando como resultado que el índice de linealidad o la velocidad curvilínea, pueden estar relacionadas con la capacidad fecundante de las dosis seminales.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo para el porcentaje de motilidad y características cinéticas de los espermatozoides son de similar magnitud a los presentados en otros trabajos en la especie cunícola, donde no se realiza una preselección de los eyaculados (Lavara *et al.*, 2008; Safaa *et al.*, 2008), sin embargo no son comparables a aquellos trabajos donde se realiza una selección de los eyaculados previa a la preparación de las dosis seminales (Lavara *et al.*, 2005; Quintero-Moreno *et al.*, 2007).

La heredabilidad de la motilidad es inferior a la encontrada para esta misma especie en la bibliografía consultada (Panella *et al.*, 1994), sin embargo la repetibilidad es semejante a la observada en esta misma especie por otros autores (Bencheik, 1995; Brun *et al.*, 2002b; Castellini *et al.*, 2006b; García-Tomás *et al.*, 2006). Indicar que la medición de la motilidad realizada en el presente estudio es probablemente una de las más fiables en la evaluación de la motilidad espermática, ya que está valorada de manera objetiva, sobre una escala continua (de 0 a 100%) y no en una valoración subjetiva sobre una escala discreta (de 0 a 5). Cabe destacar en este punto que en la bibliografía se muestran resultados en otras especies donde la heredabilidad de la motilidad muestra un rango de valores que oscilan desde 0,07 hasta 0,72, ya que dependiendo de la especie estudiada, de la población y de la edad de los machos, la heredabilidad puede mostrar valores elevados, intermedios o bajos. Brandt y Grandjot (1998) obtuvieron estimas de heredabilidad en ganado porcino bajas (0,05-0,13), sin embargo Smital *et al.* (2005), obtuvieron una h^2 intermedia (0,38). La diferencia básica entre los trabajos radica en la edad de los machos, donde puede asumirse que en los machos jóvenes la expresión de las variables seminales no está todavía estabilizada y puede provocar una estima de la heredabilidad menor. En nuestro trabajo hay que tener en cuenta este punto, ya que se trabaja con animales en dos periodos, el primero de ellos correspondiente a la primera etapa de producción espermática, y el segundo periodo tras 2-3 meses de actividad sexual, que podría considerarse que los machos inician su etapa adulta.

Las heredabilidades de las variables relacionadas con la calidad del movimiento espermático son de la misma magnitud que la observada para la motilidad, la ausencia de bibliografía respecto a estudios de componentes genéticas en estas variables hace imposible la comparación con otros resultados. La repetibilidad de las características cinéticas de los espermatozoides es semejante a la de la motilidad y se sitúa en el rango de 0,21-0,25. Destacar que tanto para la motilidad como para las características cinéticas de los espermatozoides, los valores de p^2 y c^2 son inferiores en la mayoría de los casos a los de h^2 .

De los resultados obtenidos para la r_g entre la GMD y las características de motilidad de los espermatozoides, destacar únicamente que la MOT presenta un valor intermedio y de signo negativo (-0,53; Tabla 10), mientras que para el resto de variables la correlación es pequeña. El signo y valor de la r_g observada, es comparable con la obtenida por Smith *et al.* (1989) que mostraba un valor de -0,36; si bien, al igual que ocurre en el presente estudio el autor indica que las correlaciones genéticas en las que están involucradas variables seminales presentan errores estándar elevados debido a la baja estima que presenta la heredabilidad en estas variables. De las correlaciones entre efectos de camada común, y efectos permanentes, en el caso de las variables que definen el movimiento espermático, destacar que en su mayoría son superiores a las genéticas y que en el caso de los índices presentan correlaciones entre efectos de camada común intermedios y de signo negativo.

Uno de los factores más importantes a tener en cuenta en la calidad del eyaculado es la presencia de espermatozoides con acrosomas reaccionados y de espermatozoides anormales. Se ha demostrado en diferentes especies que existe una relación inversamente proporcional entre el porcentaje de espermatozoides anormales y el poder fecundante de las dosis seminales (en porcino: Xu *et al.*, 1998, en conejos: Farrell *et al.*, 1993; Brun *et al.*, 2002a; Lavara *et al.*, 2005). No obstante, hay que tener en cuenta que el número de espermatozoides anormales es una deficiencia que puede ser compensada en

general, aumentando el número de espermatozoides en la dosis de inseminación (Braundmeier y Miller, 2001) pero es una práctica poco aconsejable. La disponibilidad de eyaculados con pocos espermatozoides anormales, posibilitaría el incrementar el número de dosis de inseminación por eyaculado a igual producción espermática. Esto mismo no ocurre con el porcentaje de espermatozoides reaccionados, dado que su inclusión en las dosis de inseminación podría reducir de forma drástica el tiempo de conservación de las dosis seminales y comprometer el éxito de la inseminación, ya que una vez comenzada la capacitación espermática el tiempo útil del espermatozoide para fecundar el ovocito es limitado.

Los valores medios del porcentaje de normalidad acrosómica (NAR) y porcentaje de espermatozoides anormales (ANOR) obtenidos en el presente trabajo son semejantes a los obtenidos en esta misma línea cuando no se preseleccionan los eyaculados (Lavara *et al.*, 2008; Safaa *et al.*, 2008) y a otras líneas genéticas seleccionadas por características de crecimiento (Brun *et al.*, 2006; García-Tomás *et al.*, 2006)

En cuanto a las h^2 , destacar que el porcentaje de formas anormales presenta una h^2 intermedia (0,19; Tabla 7) y una repetibilidad en torno a 0,4; valor que es comparable con el encontrado en la bibliografía para esta misma especie (0,39 y 0,14 para el porcentaje de anormales de cola y para el porcentaje de anormales de cabeza, García-Tomás *et al.* (2006)). Así, la h^2 encontrada en el presente trabajo es consistente con la hipótesis de que las anomalías espermáticas tienen un origen genético (Barth y Oko, 1989) y que pueden persistir durante el periodo productivo del macho. Además la r_g que presenta con la GMD no es importante, al igual que ocurre en el caso del ganado vacuno (Smith *et al.*, 1989), por lo que podría plantearse incluir una restricción por el número de anormales en la metodología de selección de esta línea de conejos.

En el caso de la h^2 de la NAR, indicar que la estima es inferior a la de ANOR, la repetibilidad observada (0,33) es comparable con la obtenida por García-Tomás *et al.* (2006), y la r_g con la GMD muestra un valor intermedio y de signo negativo (Tabla 7), por lo que la selección por velocidad de crecimiento podría disminuir el porcentaje de normalidad acrosómica de los eyaculados comprometiéndose en un futuro el tiempo de conservación de las dosis seminales de forma indirecta.

En la actualidad, con el desarrollo de los sistemas informáticos de análisis de las características seminales, se han comenzado a estudiar en numerosas especies las posibles relaciones entre la morfometría de la cabeza de los espermatozoides con morfología normal sobre la capacidad de conservación (Gravance *et al.*, 1997), el poder fecundante (Gravance *et al.*, 1996; Hirai *et al.*, 2001; Marco-Jiménez *et al.*, 2005; Hidalgo *et al.*, 2007) o la resistencia a la crioconservación de las dosis seminales (Thurston *et al.*, 2001; Gravance *et al.*, 2009). Sin embargo, no se han publicado trabajos en porcino, conejo o vacuno referentes a parámetros genéticos de dichas características.

Al contrario de lo que ocurre con el resto de variables seminales, las variables implicadas en la morfometría espermática presentan una desviación típica menor que el resto de variables estudiadas (Tabla 5), y los valores obtenidos son comparables a los observados en la bibliografía para el semen de conejo (Marco-Jiménez *et al.*, 2005; Lavara *et al.*, 2006; 2008; Safaa *et al.*, 2008).

Por otro lado las variables de morfometría muestran en su mayoría una h^2 (0,20-0,29; Tabla 7) y una repetibilidad (0,49-0,37; Tabla 7) intermedias. No obstante, la correlación genética con GMD es de sentido negativo y de valor intermedio en determinadas variables (-0,43 a -0,34; Tabla 11). El resultado obtenido para la h^2 es inferior a la observada en el caso de semen de gallos donde la h^2 es muy superior (0,51-0,62; Sinha y Murherjee, 1975).

6. CONCLUSIONES

Las variables que definen la producción y motilidad seminal, presentan heredabilidades bajas (0,07-0,12). Por el contrario, las variables relacionadas con la morfología y morfometría del espermatozoide presentan heredabilidades intermedias (0,18-0,29).

La mayoría de las variables presentan una correlación genética moderada y desfavorable con la ganancia media diaria. A excepción del volumen que presenta una correlación genética favorable con la ganancia media diaria.

Sería posible integrar en un futuro la información del porcentaje de espermatozoides anormales, en el proceso de selección de futuros reproductores de líneas paternas, dado que la correlación genética con la ganancia media diaria es baja, y la heredabilidad del carácter es intermedia.

7. BIBLIOGRAFÍA

Arroita Z., Falceto M.V., Martín Rillo S., De Alba C., Moreno C., Ciudad M.J., Rafel O. 2000. Effect of collection frequency on production, quality and storage of young bucks semen. 7th World Rabbit Congress. Vol(A): 163-166.

Barth A. D., Oko R. J. 1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Iowa State University Press. 1989.

Baselga M., Santacreu M.A., Argente M.J., Cifre J. 1996. Genética y selección del conejo de carne. En: Zootecnia. Bases de la producción animal. Volumen IX. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

Ben Saad M.M. 1997. Testicular activity in *Oryctolagus cuniculus*, a wild rabbit from Zembra island (Tunisia), during short days and long days. The effect of pineal gland deafferentation. Arch Physiol Biochem 105: 71-77.

Bencheikh N. 1995. Effet de la fréquence de collecte de la semence sur les caractéristiques du serme et des spermatozoïdes récoltés chez le lapin. Ann Zootech 44: 263-279.

Besenfelder U., Theau-Clément M., Sabbioni E., Castellini C., Renieri T., Havlicek V., Huber T., Wetschr F., Mösslacher G., Brem G. 2004. Effects of different light intensities on quality of spermatozoa in rabbits. World Rabbit Sci 12: 227-234.

Brandt H., Grandjot G. 1998. Genetic and environmental effects of male fertility of AI-boar. In: Proceedings of the 6th world congress on genetics applied to livestock production 23: 527.

Braundmeier A.G., Miller D.J. 2001. The search is on: finding accurate molecular markers of male fertility. *J Dairy Sci* 84: 1915-1925.

Brun J.M., Theau-Clément M., Bolet G. 2002a. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 70: 139-49.

Brun J.M., Theau-Clément M., Bolet G. 2002b. Evidence for heterosis and maternal effects on rabbit semen characteristics. *Anim Res* 51: 433-442.

Brun J.M., Theau-Clément M., Esparbié J., Falières J., Saleil G., Larzul C. 2006. Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63d body weight. *Theriogenology* 66: 2165-2172.

Castellini C., Cardinali R., Dal Bosco A., Minelli A., Camici O., 2006a. Lipid composition of the main fractions of rabbit semen. *Theriogenology* 65: 703-712.

Castellini C., Lattaioli P., Bernardini M., Dal Bosco A. 2000. Effect of dietary α -tocopheryl acetate and ascorbic acid on rabbit semen storage at 5°C. *Theriogenology* 54: 523-533.

Castellini C., Lattaioli P., Cardinali R., Dal Bosco A. 2006b. Effect of collection rhythm on spermatozoa and droplet concentration of rabbit semen. *World Rabbit Sci* 14: 101-106

Castellini C., Lattaioli P., Cardinali R., Dal Bosco A., Mourvaki E. 2007a. Validation of a spectrophotometric method used for the measurement of spermatozoa concentration in rabbit semen. *World Rabbit Sci* 15: 115-119.

Castellini C., Mourvaki E., Dal Bosco A., Galli F. 2007b. Vitamin E Biochemistry and function: A case study in male rabbit. *Reprod Dom Anim* 42: 248-256.

Correa J.R., Pace M.M., Zavos P.M. 1997. Relationships among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination program. *Theriogenology* 48: 721-731.

David I., Druart X., Lagriffoul G., Manfredi E., Robert-Gramié C., Bodin L. 2007. Genetic and environmental effects on semen traits in Lacaune and Manech tête rouse AI rams. *Genet Sel Evol* 39: 405-419.

De Blas C., Wiseman J. 1998. *The nutrition of the rabbit*. CABI Oxon, UK.

Estany J., Camacho J., Baselga M., Blasco A. 1992. Selection response of growth rate in rabbits for meat production. *Genet Sel Evol* 24: 527-537.

Farrell P.B., Foote R.H., Mc Ardle M.M., Trouern-Trend V.L., Tardif A. 1996. Media and dilution procedures tested to minimize handling effects on human, rabbit, and bull sperm for computer-assisted sperm analysis (CASA). *J Androl* 17(3): 293-300.

Farrell P.B., Foote R.H., Simkin M.E., Clegg E.D., Wall R.J. 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated, and fertility in rabbits. *J Androl* 14(6):464-471.

Finzi A., Daarer A., Yamani K., Soliman A., Askara A. 2000. Influence of chronic high relative humidity on semen quality of hot stressed bucks. 7th World Rabbit Congress. Vol(A): 117-124.

Flowers W.L. 1997. Management of boars for efficient semen production. J Reprod Fertil 52: 67-68.

Gadea J., Matás C., Lucas X. 1998. Prediction of porcine semen fertility by homologous in vitro penetration (hIVP) assay. Anim Reprod Sci 18: 95-108.

García M.L., Baselga M. 2002. Estimation of correlated response on growth traits to selection in litter size of rabbits using a cryopreserved control population and genetic trends. Livestock Production Sci 78: 91-98.

García-Tomás M., Sánchez J., Rafel O., Ramon J., Piles M. 2006. Heterosis, direct and maternal genetic effects on semen quality traits of rabbits. Livest. Sci. 100:111-120.

Gómez E. A., Santacreu M.A. 1996. Mejora genética aplicada en el conejo de carne. ITEA, Vol. 92(A): 142-154.

Gómez E.A., Rafel O., Ramón J. 2000. Preliminary genetic analyses of Caldes line: a selection experiment for a global objective. 7th World Rabbit Congress (A): 417-423. Julio 2000. Valencia. España.

Gravance C.G, Casey M.E, Casey P.J. 2009. Pre-freeze bull sperm head morphometry related to post-thaw fertility. Anim Reprod Sci 114: 81-88.

Gravance C.G., Vishwanath R., Pit C., Casey P.J. 1996. Computer automated morphometric analysis of bull sperm heads. *Theriogenology* 46: 1205-1215.

Gravance C.G., White C., Roberson K.R., Champion Z.J., Casey P.J. 1997. The effects of cryopreservation on the morphometric dimensions of caprine sperm heads. *Anim Reprod Sci* 49: 37-43.

Grendler B., Fuerst C., Fuerst-Waltl B., Schwarzenbacher H., Sölkner J. 2007. Genetic parameters for semen production traits in Austrian dual-purpose Simmental bulls. *Reprod Dom Anim* 42: 326-328.

Hagen D.R., Gilkey A.L., Foote R.H. 2003. Spermatozoal velocity and motility and its relationship to fertility in rabbit inseminated with low sperm numbers. *World Rabbit Sci* 10: 135-140.

Hallap T., Haard M., Jaakma Ü., Larsson B., Rodriguez-Martinez H. 2004. Does cleansing of frozen-thawed bull semen before assessment provide samples that relate better to potential fertility. *Theriogenology* 62: 702-713.

Hidalgo M., Rodríguez I., Dorado J.M. 2007. The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability. *Anim Reprod Sci* 100: 61-72.

Hirai M., Boersma A., Hoeflich A., Wolf E., Foll J., Aumüller T.R., Braun J. 2001. Objectively measured sperm motility and sperm head morphometry in boars (*sus scrofa*): relation to fertility and seminal plasma growth factors. *J Androl* 22: 104-110.

Holt C., Holt W.V., Moore H.D., Reed H.C., Curnock R.M. 1997. Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: results of two fertility trials. *J Androl* 18: 312-313.

Humblot P. 1999. Utilisation de l'insémination artificielle et du transfert embryonnaire en France, leur impact sur la limitation des problèmes sanitaires. *Biotechnologies de la reproduction animale et sécurité sanitaire des aliments*.

Johnson B. H., Eisen E.J. 1975. Effects of selection for postweaning gain on testicular function in mice. *Can J Genet Cytol* 17: 93-98.

Kealey C.G., MacNeil M.D., Tess M.W., Geary T.W., Bellows R.A. 2006. Genetic parameter estimates for scrotal circumference and semen characteristics of Line 1 Hereford bulls. *J Anim Sci* 84: 283-290.

Knapp H.R. 1990. Prostaglandins in human semen during fish oil ingestion: evidence for in vivo cyclooxygenase inhibition and appearance of novel trienoic compounds. *Prostaglandins* 39: 407-423.

Knights S.A., Baker R.L., Gianola D., Gibb J.B. 1984. Estimates of heritabilities and of genetic and phenotypic correlations among growth and reproductive traits in yearling angus bulls. *J Anim Sci* 58: 887-893.

Kruger T.F., Ackerman S.B., Simmons K.F., Swanson R.J., Brugo S.S., Acosta A.A. 1996. A quick reliable staining techniques for human sperm morphology. *Arch Androl* 18: 275-277.

Lavara R., Baselga M., Vicente J.S. 2007. Análisis cromosómico en machos de conejo. Resultados preliminares. AIDA XII Jornadas sobre producción animal. Tomo (I): 398-401.

Lavara R., Marco-Jiménez F., Cortell C., Safaa H.M., Vicente J.S. 2006. Sperm head morphometry parameters in two selected Rabbit lines. *Reprod Dom Anim* 277.

Lavara R., Mocé E., Lavara F., Viudes de Castro M.P., Vicente J.S. 2005a. Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits? *Theriogenology* 64: 1130–1141.

Lavara R., Vicente J.S., Marco-Jiménez F., Baselga M. 2008. Correlation among CASA and ASMA parameters in rabbit semen. 9th World Rabbit Congress. 381-386.

Legarra A., Varona L., López de Maturana E. 2008. <http://cat.toulouse.inra.fr/~alegarra>

Marai I.F.M., Habeed A.A.M., Gad A.E. 2002. Rabbits productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest Prod Sci* 78: 71–90.

Marco-Jiménez F., Balasch S., Vicente J.S., Lavara R., Viudes-de-Castro M.P., Mocé E. 2005. Detection of sub-fertile rabbits by means of sperm head morphometric analysis. In: *Proceeding of the 30th Annual meeting of Journal of Andrology*. Seattle, EEUU, pp. 124.

Mathevon M., Buhr M.M., Dekkers J.C. 1998. Environmental, management, and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *J Dairy Sci* 81: 3321–3330.

MMA 2009. Encuesta nacional de cunicultura 2008. Memoria 2009. Secretaría General del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Secretaría general técnica.

Mocé E., Lavara R., Lavara F., Vicente J.S. 2000. Effect of reproductive rhythm on seminal parameters from a rabbit line with high growth rate. 7th World Rabbit Congress. Vol(A): 197-201.

Mocé E., Lavara R., Marco-Jiménez F., Vicente J.S., López M. 2005. Características seminales de la raza de conejo Gigante de España. ITEA Vol 26: 350-352.

Mortimer D. 2000. CASA: Practical Aspects. J. Andrology. 21(4): 515-524. 2000.

Mortimer D., Menkvekd R. 2001. Sperm morphology assessment-historical perspectives and current options. J Androl 62: 192-205.

Nizza A., Di Meo C., Taranto S. 2003. Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. Reprod Domest Anim 38: 436-439.

O'Bryan M.K., Schlatt S., Philips D.J., De Kretser D.M., Hedger M.P. 2000. Bacterial lipopolysaccharide-induced inflammation compromises testicular function at multiple levels *in vivo*. Endocrinology 141: 238-246.

Oh S.H., See M.T., Long T.E., Galvin J.M. 2006. Estimates of genetic correlations between production and semen traits in boar. Asian-Australasian J Anim Sci. 19(2): 160-164.

Panella F., Castellini C., Facchin E. 1994. Heritability of some male reproductive traits in rabbit. *Cahiers Options Méditerranéennes*. Vol: 8: 279-283.

Pérez-Sánchez F., Tablado L., Yeung C.H., Cooper T. G., Soler C. 1996. Changes in the motility patterns of spermatozoa from the rabbit epididymis as assessed by computer-aided sperm motion analysis. *Mol. Reprod. Dev.* 45: 364-371.

Piles M., Blasco A. 2003. Response to selection for growth rate in rabbits estimated by using a control cryopreserved population. *World Rabbit Sci* 11: 53-62.

Piles M., Tusell LL., García-Tomás M., López-Bejar M., García-Ispuerto I., Ramón J., Rafel O., Baselga M. 2008. Interacción genotipo x tipo de dosis de inseminación artificial para la fertilidad del macho de conejo. *ITEA* 104(2): 160-168.

Quintero-Moreno A., Rigau T., Rodríguez-Gil J.E., 2007. Multivariate cluster analysis regression procedures as tools to identify motile sperm subpopulations in rabbit semen and to predict semen fertility and litter size. *Reprod. Domest Anim* 42 312-9.

Ramón J., Rafel O., Piles M. 2002. GTE 2000. Resultados de gestión en España. *Boletín de Cunicultura* 124: 32-40.

Rege J.E.O., Toe F., Mukasa-Mugerwa E., Tembely S., Anindo D., Baker R.L., Lahlou-Kassi A. 2000. Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep: II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. *Small Rum Res* 37 (3): 173-187.

Roca J., Martínez S., Orengo J., Parrilla I., Vázquez J., Martínez E.A. 2005. Influence of constant long days on ejaculate parameters of rabbits reared under natural environment conditions of Mediterranean area. *Livest Prod Sci* 94: 169-174.

Rosell J.M., De la Fuente L.F. 2009. Culling and mortality in breeding rabbits. Preventive Veterinary Medicine. 88: 120-127.

Saacke R.G., White J.M. 1972. Semen quality and their relationship to fertility. Proceedings of the 4th NAAB technical conference on animal reproduction AI: 23-27.

Safaa H.M., Vicente J.S., Lavara R., Viudes de Castro M.P. 2008. Semen evaluation of two selected lines of rabbit bucks. World Rabbit Sci 16: 141-148.

Santacreu M.A. 2002. Estado y demandas actuales de los programas de mejora del conejo de carne. XI Reunión Nacional de Mejora Genética Animal. Pamplona 2002. ITEA. 101-111.

Sinha S.P., Murherjee D.P. 1975. Genetics of fowl spermatozoa. II. Heritability estimates of the dimensional characteristics. Indian J Poultry Sci 10(1): 40-42.

Smital J., Wolf J., De Sousa L.L. 2005. Estimation of genetic parameters of semen characteristics and reproductive traits in AI boars. Anim Repr Sci 86: 119-130.

Smith B.A., Brinks J.S., Richardson G.V. 1989. Estimation of genetic parameters among breeding soundness examination components and growth traits in yearling bulls. J Anim Sci 67: 2892-2896.

Tardif S., Laforest J.P., Cormier N., Bailey J.L. 1999. The importance of porcine sperm parameters on fertility in vivo. Therigenology 52: 447-459.

Theau-Clement M., Falieres J. 2005. Evaluation de la concentration de semence de lapins selon 2 méthodes: Hématimètre et NucleoCounter SP100. In Proc.: 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, Paris. 95-99.

Theau-Clément M., Michael N., Esparbie J., Bolet G. 1995. Effects of artificial photoperiods on sexual behaviour and sperm output in the rabbit. *Anim Sci* 60; 143-149.

Thurston L.M., Watson P.F., Mileham A.J., Holt W.V. 2001. Morphologically distinct sperm subpopulations defined by fourier shape descriptors in fresh ejaculates correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. *J Androl* 22: 382-394

Torres C., Cifre J., Torres R. 1997. Reposición y adquisición de reproductores. *Mundo ganadero* 93: 58-62.

Tusell LL., Rafel O., Ramón J., Piles M. 2009. Análisis genético de los caracteres de fertilidad y velocidad de crecimiento en la hembra de conejo. AIDA, XIII Jornadas sobre Producción Animal, Tomo (I): 99-101.

Verstenger J., Iguer-Ouda M., Onclin K. 2002. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology* 57: 149–179.

Vicente J.S., Viudes de Castro M.P., Lavara R., Lavara F. 2000. Effect of male line on prolificacy from does inseminated with low sperm doses. Proc: 7th World Rabbit Congress, Valencia A: 1273-1277

Viudes de Castro M.P, Vicente J.S., Lavara R. 1999. Effet du nombre de spermatozoïdes sur la fertilité de la semence conservé 24 heures chez le lapin. *Ann*

Zootech 48: 407–12.

Walton A. 1927. The relation between “density” of sperm-suspension and fertility: as determined by artificial insemination of rabbits. Proc Roy Soc B: 101-303.

Williams J., Gladen B., Schrader S., Turner T., Phelps J., Chapin R. 1990. Fundamental and applied toxicology 15: 651-665.

Xu X., Pommier S., Arbov T., Hutchings B., Sotto W., Foxcroft G.R. 1998. In vitro maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility. J Anim Sci 76: 3079-3089.

Young R.J., Bodt B.A. 1994. Development of computer-directed methods for the identification of hyperactivated motion using motion patterns developed by rabbit sperm during incubation under capacitation conditions. J Androl 15 (4): 362-377.

Young R.J., Bodt B.A., Iturralde T.G., Starke W.C. 1992. Automated analysis of rabbit sperm motility and the effect of chemicals on sperm motion parameters. Mol Reprod Dev 33: 347-356.

Zhang J., Boyle M.S., Smith C.A., Moore H.D.M. 1990. Acrosome reaction of stallion spermatozoa evaluated with monoclonal antibody and zona-free hamster eggs. Mol Reprod Dev 27: 152-158.