

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

EFECTO DEL ZINC EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, REPRODUCTIVO Y CALIDAD DE LA CARNE EN CONEJOS NUEVA ZELANDA BLANCO

HECTOR LUIS CHINCOYA

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2020

La presente tesis titulada **EFFECTO DEL ZINC EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, REPRODUCTIVO Y CALIDAD DE CARNE EN CONEJOS NUEVA ZELANDA BLANCO** realizada por el alumno: **Hector Luis Chincoya** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

RECURSOS GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. José G. Herrera Haro

ASESOR



Dr. Arturo Pro Martínez

ASESOR



Dr. Amalio Santacruz Varela

ASESOR



Dra. Martha Patricia Jerez Salas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre 2020

EFECTO DEL ZINC EN EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, REPRODUCTIVO Y CALIDAD DE CARNE EN CONEJOS NUEVA ZELANDA BLANCO

Hector Luis Chincoya Dr.

Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue analizar los efectos de diferentes concentraciones de Zn en conejos Nueva Zelanda Blanco (NZB), durante dos etapas fisiológicas: en engorda de gazapos y sementales activos. El primer experimento se compararon dos fuentes de Zn (orgánico e inorgánico) adicionados a la dieta. Se utilizaron 120 conejos NZB de ambos sexos, con 40 días de edad, distribuidos aleatoriamente en cinco tratamientos: grupo control (con Zn de los ingredientes), dos concentraciones de Zn (25 y 75 mg Zn kg⁻¹ en dieta) por cada fuente (organiza e inorgánica), con la finalidad de identificar la respuesta en ganancia de peso, conversión alimenticia, calidad de carne y retención de Zn en músculo *Longissimus dorsi* y *Biceps femoris*, con la técnica de espectrofotometría de absorción atómica (EAA). El segundo experimento se estudió el efecto de concentraciones mayores de Zn en sementales en etapa reproductiva, se consideraron 32 machos NZB a la edad de 20 semanas, fueron tres tratamientos; grupo control (con Zn de los ingredientes), 150 y 200 mg Zn kg⁻¹ en dieta, se utilizó metionato de zinc como fuente orgánica; con el objetivo de estudiar las características de producción seminal, cinemática de movimiento y calidad del esperma, empleando el software CASA IVOS II (V. 1.7). Los resultados del primer experimento mostraron una disminución en la conversión alimenticia, se mejoraron los índices de coloración (b*) al usar la fuente orgánica. El contenido de proteína, colágeno y grasa no fueron afectados por las fuentes y concentraciones de Zn estudiadas; sin embargo, la mayor deposición de Zn se obtuvo con la concentración de 25 mg Zn kg⁻¹ en dieta. El Zn orgánico en sementales presentó un efecto negativo con la concentración de 200 mg Zn kg⁻¹ en dieta, en características de cinemática de movimiento. El grupo control y 150 mg Zn kg⁻¹ en dieta, presentaron un desempeño positivo. Los resultados obtenidos indican que la inclusión de 25 y 150 mg Zn kg⁻¹ en dieta de conejos en etapa de engorda y reproducción son necesarios para desarrollo adecuado.

Palabras clave: Calidad de carne, calidad seminal, concentraciones de zinc.

EFFECT OF ZINC ON GROWTH AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE AND MEAT QUALITY IN NEW ZEALAND WHITE RABBITS

Hector Luis Chincoya Dr.

Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the effects of different concentrations of Zn on New Zealand White rabbits (NZW), in two stages: in growth performance, and in the reproductive stage of rabbit bucks. In the first experiment, two Zn sources (organic and inorganic) added into the diet were compared; 120 40-days-old, male and female rabbits, these were randomly divided into five treatments; control group (only Zn contained in feed), and two concentrations (25 and 75 mg Zn kg⁻¹ in diet) for each source (organic and inorganic). In order to identify the response in weight gain, feed conversion, meat quality and Zn retention into *Longissimus dorsi* and *Biceps femoris* muscles, the atomic absorption spectrophotometer (AAS) technique. The second experiment aimed to study of the effect of Zn concentrations greater than reproductive-stage rabbit-buck, required a total of. 32 20-weeks-old rabbit bucks were divided into three treatments; control group (25.5 mg Zn kg⁻¹ in diet), Zn150 and Zn200. The only Zn source was organic Zn-methionine. The aim was to determine the effect on characteristics of seminal production, kinematics of movement, and sperm quality, using CASA IVOS II software (V. 1.7). The results of the first experiment showed a decrease in feed conversion, and coloration indexes (b*) and those were improved when using the organic source; the protein, collagen, and fat content were not affected by the sources and concentrations of Zn studied; however, the highest deposition of Zn was obtained with the concentration of 25 mg Zn kg⁻¹ in diet. In bucks using organic Zn, a negative effect on the characteristics of motion kinematics was shown with the concentration of 200 mg Zn kg⁻¹ in diet. A positive performance in seminal quality was observed with the control group, and 150 mg Zn kg⁻¹ in diet. The results indicate that the inclusion of 25 and 150 mg Zn kg⁻¹ in diet of rabbits in the fattening and reproduction stage, seem to be necessary for an adequate development.

Keywords: meat quality, seminal quality, zinc concentrations.

DEDICATORIA

A mis padres Romualdo Luis y Ana Chincoya.

¡Mi amor eterno para ustedes, mi fuente infinita de motivación!

A mis hermanos Miguel, Idalia y Gladys.

Mi gran equipo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca correspondiente para realizar los estudios doctorales.

Al Colegio de Postgraduados campus Montecillo en especial al Programa de Recursos Genéticos y Productividad-Ganadería por la oportunidad brindada para mi desarrollo profesional.

A mi profesor consejero Dr. José G. Herrera Haro por su apoyo incondicional, orientación, amistad y consejos que fueron esenciales en la en mi formación doctoral.

A mi asesora Dra. Martha Patricia Jerez Salas por su dedicación, ayuda e impulso a seguir en este camino de la formación científica.

A mi asesor Dr. Arturo Pro Martínez por su apoyo, compromiso, empeño y por los conocimientos aportados al trabajo de investigación.

A mi asesor Dr. Amalio Santacruz Varela por su apoyo, compromiso y por su profesionalismo en los conocimientos aportados a la investigación.

Al Dr. Raymundo Rodríguez de Lara, Dra. Marianela Fallas López, Dra. Rosa López, por aporte de conocimientos en la realización de dicha investigación.

A mi hermosa novia por todo su apoyo incondicional durante esta etapa.

A mis amigos María Gil, Joan Albert, Olga Torres, Berenice Bernal y María Teresa por su disposición incondicional, amistad otorgada, los conocimientos transmitidos durante mi estancia en España.

A mis amigos que coincidimos en esta parte del recorrido de la vida, un placer por los momentos de aprendizaje colectivo.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Funciones de los minerales	4
Importancia de los minerales traza.....	4
Rol del zinc.....	4
Funciones biológicas del zinc	5
Biodisponibilidad del zinc.....	7
Requerimientos de zinc para conejos	8
Características de las fuentes del zinc.....	9
Impacto de zinc con calidad de carne.....	9
Impacto de zinc en la reproducción.....	10
Literatura citada.....	12
CAPÍTULO I. EFFECT OF SOURCE AND CONCENTRATION OF ZINC ON GROWTH PERFORMANCE, MEAT QUALITY AND MINERAL RETENTION IN NEW ZEALAND RABBITS ¹	21
1.1. ABSTRACT.....	21
1.2. INTRODUCTION.....	22

1.3. MATERIALS AND METHODS	23
1.4. RESULTS.....	27
1.5. DISCUSSION	31
1.6. CONCLUSION	35
1.7. REFERENCES.....	35
CAPITULO II. EFECTO DEL ZINC ORGÁNICO EN EL COMPORTAMIENTO SEXUAL, CALIDAD SEMINAL Y PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA EN CONEJOS	40
2.1. RESUMEN.....	40
2.2 ABSTRACT.....	41
2.3 INTRODUCCIÓN	42
2.4. MATERIALES Y METODOS	43
2.5. RESULTADOS	48
2.6. DISCUSIÓN.....	54
2.7. CONCLUSIÓN	56
2.8. LITERATURA CITADA.....	57
CONCLUSIONES GENERALES.....	64

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la carne de las principales especies domesticas.	9
Table 1.1. Composition of basal diet for fattening rabbits.....	2424
Table 1.2. Average weight gain, FEED consumption, FEED conversion, live body weight and carcass weight (g) according to the source and concentration of Zn added to the diet. ...	2828
Table 1.3. Average values of rabbit meat quality indicators by adding two sources of Zn (Zinc sulfate and Zn-Methionate) at two concentrations (25 and 75 mg Zn kg ⁻¹) on the diet.	30
Table 1.4. Average Zn retention values (ppm) in rabbit tissues by adding two sources of Zn (zinc sulfate and Zn-methionate) to two concentrations (25 and 75 mg Zn kg ⁻¹) on a diet.....	1
Cuadro 2.1. Composición de la dieta basal para conejos.....	455
Cuadro 2.2. Concentración de Zn y orden de eyaculado en el comportamiento sexual y características seminales de conejos machos NZB expresado en medias de cuadrados mínimos.	49
Cuadro 2.3. Concentración de Zn y orden de eyaculado en las características de motilidad y cinemática de movimiento espermático de conejos NZB expresado en medias de cuadrados mínimos.	50
Cuadro 2.4. Concentración de Zn y orden de eyaculado en características de viabilidad, morfología espermática y número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial expresado en medias de cuadrados mínimos.	52

LISTA DE FIGURAS

Figure 1.1. Interaction source × concentration of Zn added to the rabbit diet and its effect on FEED conversion.....	28
Figure 1.2. Interaction of the source × concentration of Zn in rabbit diet and its effect on the B* index on <i>Longissimus dorsi</i> muscle.	31
Figura 2.1. Interacción de la concentración de Zn x orden de eyaculado en el número de espermatozoides por eyaculado en machos NZB.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 2.2. Interacción de la concentración de Zn x orden de eyaculado en Wob (%) en machos NZB.	¡Error! Marcador no definido.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los minerales traza juegan un rol especial en la nutrición y son esenciales en la dieta (Brugger and Windisch, 2015). Durante el periodo de 1930-1930 el Zinc (Zn) fue reconocido como un nutriente esencial para plantas y animales (Kumar et al., 2018). Está involucrado en la síntesis y degradación de carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos así como en el metabolismo de otros micronutrientes (Thingholm et al., 2020). El Zn juega un papel central en el sistema inmune, y actúa como cofactor catalítico, regulador y estructural (Bafaro et al., 2017).

Los requerimientos de Zn para conejos son 35-70 mg Zn kg⁻¹ de dieta (De Blas y Mateos, 2010). La importancia del zinc en la nutrición de conejos se debe a dos principales razones: primero, como requerimiento esencial, involucrado en funciones de crecimiento de un organismo (Biotechnology et al., 2018; Tomaszewska et al., 2017; Yan et al., 2017) y en la reproducción (Milostić-Srb et al., 2020; Fallah et al., 2018; Khoobakht et al., 2018), y segundo, como una fuente de alimento que proporciona proteína, vitaminas y minerales, convirtiéndose en un producto de alto valor biológico excelente para la alimentación humana (Dalle Zotte y Szendro, 2011).

Estudios previos en conejos suplementados con óxido de Zn, señalan una mejora en el peso de las conejas gestantes y de su camada al nacer (Cavalcante y Ferreira, 2000; Alikwe et al., 2011). Por otro lado, el Zn orgánico es considerado una fuente alternativa, por mejor absorción y utilización (Alimohamady et al., 2018). La suplementación de 80 mg Zn kg⁻¹ en forma de lactato de zinc disminuyó la incidencia de diarreas en conejos de engorda (Yan et al., 2017). La inclusión de 100 mg Zn kg⁻¹ de dieta en forma de Glycinoplex-Zn mejoró la disponibilidad (Na, K, Fe, Mn y Zn) y en la carne aumentó la concentración de colesterol, capacidad de retención de agua y valor energético (kJ 100 g⁻¹) del músculo *Longissimus dorsi* (Chrastinová et al., 2016). La concentración de 200 mg kg⁻¹ de Zn-Metionato presentaron; mayor digestibilidad de la proteína, ganancia de peso y respuesta inmune (Meshreky et al., 2015).

Mientras tanto, en machos los requerimientos de Zn son mayores respecto a la etapa de crecimiento, porque es necesario para el desarrollo testicular y del proceso de espermatogénesis (Kerns et al., 2018; Sutovsky et al., 2019). Evidenciando una atención necesaria a los requerimientos de Zn (Brugger y Windisch, 2019). En estudios previos, al usar concentraciones de 150 mg Zn kg⁻¹ de dieta se mejoró la concentración y motilidad espermática (Baiomy et al., 2018; Oliveira et al., 2004); sin embargo, estos resultados no son concluyentes en aspectos de calidad y cinemática de movimiento de los espermatozoides, minimizando la influencia del macho en la fertilidad y prolificidad de las hembras (El-Tarabany et al., 2015).

Por lo anterior, es importante considerar que la biodisponibilidad de Zn de fuentes orgánicas, podría influir en el crecimiento en la etapa de engorda y en sementales en la mejora de la fertilidad del macho (Narasimhaiah et al., 2018). En el presente estudio se analizaron los efectos de dos fuentes y diferentes concentraciones de Zn en conejos durante la etapa de engorda y en sementales de la raza NZB.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de Sulfato de Zinc y Metionato de Zinc a diferentes concentraciones en dieta, en el comportamiento productivo, reproductivo y calidad de la carne de conejos Nueva Zelanda Blanco.

Particulares

1. Evaluar dos fuentes y dos concentraciones de Zinc en comportamiento productivo, calidad de carne y retención en musculo de conejos Nueva Zelanda Blanco.
2. Evaluar dos concentraciones de Metionato de Zinc en la producción espermática de sementales Nueva Zelanda Blanco.

HIPÓTESIS

La respuesta productiva, características de la canal y retención de Zn en musculo en conejos en etapa de engorda, mejoraran al utilizar Zn orgánico, comparado con Zn inorgánico.

La producción seminal y calidad del semen de conejos machos se mejora al utilizar Zn orgánico a niveles altos comparada con el grupo control.

REVISIÓN DE LITERATURA

Funciones de los minerales

Los minerales son componentes estructurales del organismo y juegan un importante rol en las actividades de enzimas y hormonas, como constituyentes de fluidos corporales y tejidos, y como reguladores de replicación y diferenciación celular (Kumar, 2015). Extensas investigaciones realizadas en los diferentes minerales, basadas principalmente en su valor económico y deficiencia en dietas, han generado una importante literatura de los requerimientos del calcio y fosforo en aves principalmente; sin embargo, es evidente la escasas de investigaciones de elementos trazas en el área de la nutrición (Bao y Choct, 2009). Después de las necesidades de energía, proteína, los minerales son requeridos en mayor cantidad y prioridad para optimizar la producción y reproducción en animales domésticos (Kumar, 2015).

Importancia de los minerales traza

Los minerales traza son definidos como aquellos que son requeridos en mg por día y las necesidades son expresadas como mg kg⁻¹ o ppm en la dieta y entre ellos se encuentran el Fe, Cu, Mn, Zn, Se, I y Co (Mateos et al., 2010). Los elementos traza están involucrados en numerosos procesos digestivos, fisiológicos y biosintéticos dentro del organismo y juegan un rol importante principalmente en el crecimiento (Colagar et al., 2009). Los requerimientos de estos minerales varían de acuerdo con la especie (National Research Council, 2005). Al formular dietas, las recomendaciones nutricionales suelen variar ampliamente, dependiendo de la fuente de información que utilice, algunas de las recomendaciones pueden tener diferencias de más del 30 % (García Contreras, 2010).

Rol del zinc

El zinc (Zn) es un mineral traza esencial y juega roles muy importantes en metabolismo como un componente de numerosas metaloenzimas y como cofactor de transcripción (Cui et al., 2017; Ze-Pen et al., 2005). Es el segundo elemento traza más abundante en el organismo del animal (Gammoh y Rink, 2017), pero éste no puede estar almacenado en grandes cantidades

como el calcio y requiere de la ingesta dietaria regular para llenar las necesidades fisiológicas (Swain et al., 2016). El Zn es necesario para proliferación y diferenciación celular (Gammoh y Rink, 2017). El Zn es esencial en el cuerpo en funciones fisiológicas apropiadas como el crecimiento normal, (Meshreky et al., 2015) reproducción (Oliveira et al., 2004), síntesis de DNA, división celular y expresión génica (Cui et al., 2017). EL Zn es un metal multipropósito que es vital para el crecimiento y función de todas las células. El sistema inmune es afectado especialmente por la modificación de la homeostasis del Zn (Gammoh y Rink, 2017).

Funciones biológicas del zinc

El Zn es un elemento esencial para los animales, funciona ampliamente y completamente en sistemas enzimáticos y está involucrado en el desarrollo y crecimiento normal (Ortega, 2016), en la síntesis de proteínas, metabolismo de carbohidratos y en varias reacciones bioquímicas (Sobhanirad y Carlson, 2010; Shannon y Hill, 2019). Este elemento es importante en el mantenimiento de la salud e integridad de la piel y tejido epitelial. Por ello, investigaciones previas han evaluado hasta 3000 ppm de inclusión de Zn (Shannon y Hill, 2019), con el objetivo ofrecer concentraciones farmacológicas de Zn para mejorar el crecimiento de cerdos en lactancia. Al uso de estas concentraciones también se atribuyen la disminución de la presencia de la bacteria *Escherichia coli* (Brugger y Windisch, 2015).

Las metalotioneinas (MTs) son proteínas unidas al ion metal de Zn y de bajo peso molecular, que contiene una tercera parte de residuos de cistina (Kimura y Kambe, 2016). Alrededor del 20% del Zn intracelular está unido a MTs y puede ser rápidamente reemplazado, su principal función es mantener la homeostasis del Zn (Gammoh y Rink, 2017). Con ello, el Zn tiene un amplio espectro de reacciones biológicas incluyendo funciones estructurales y enzimáticas para una multitud de componentes celulares (Uriu-Adams y Keen, 2010)

El Zn participa en los procesos biológicos que lo involucran en su forma iónica o como parte estructural o funcional de una gran variedad de proteínas. De acuerdo con la ubicación del Zn en estas MTs pueden actuar como catalizador (carboxipeptidasa A), cocatalizador (fosfatasa alcalina, fosfolipasa C, nucleasa P1 y leucina aminopeptidasa) o desempeñando una función estructural (Cu/Zn-SOD y dedos de Zn) (Jarosz et al., 2019). Cuando el Zn se

encuentra en el sitio catalítico, el ion de Zn participa directamente en el proceso de formación o ruptura de uniones moleculares (Sloup et al., 2017). Cuando se ubica en un sitio catalítico, hay varios iones unidos entre sí en donde uno de ellos desempeña una función catalizadora y el resto de los iones mejoran la actividad catalítica del sitio. Por último, el Zn en su función estructural, participa estabilizando la estructura terciaria de la enzima de manera análoga al puente disulfuro (Kloubert y Rink, 2015).

Absorción del zinc

En no rumiantes, la absorción del Zn tiene lugar principalmente en el intestino delgado, en la porción del yeyuno (National Research Council, 2005). El proceso de absorción del Zn está regulado en dos eventos independientes; el primero, la captación del Zn desde el lumen intestinal hacia el interior del enterocito (Fig. 1); en el segundo, el transporte desde la célula hacia la sangre porta del hígado (Yu Yu et al., 2017). La ingesta de Zn al intestino delgado ocurre por dos procesos: el primero no mediado (no saturable) no es afectado por la ingesta de Zn dietario; no requiere energía y entra a la célula por difusión (National Research Council, 2005). El segundo es un proceso mediado (saturable) que está estimulado por la falta de Zn, pero requiere de altas concentraciones de Zn para llevar a cabo la absorción paracelular (Goff, 2018).

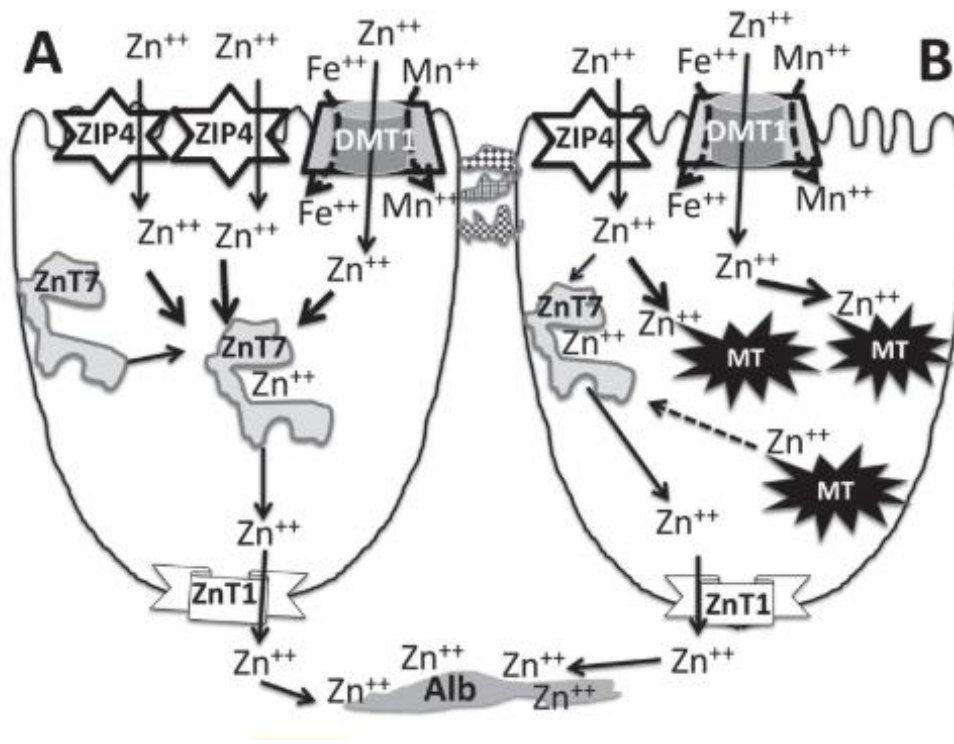


Fig. 1. Absorción de Zn transcelular de enterocito (A), cuando se necesita Zn, el transportador de Zn mueve iones de Zn a través de la membrana apical por la proteína transportadora 4 (ZIP4), El Zn puede competir con el Fe y MN por el transporte d a través de la membrana apical a través de la membrana apical vía la proteína de transporte de metales divalentes 1 (DMT1). Una proteína chaperona de Zn, ZNT7, captura el ion de Zn que ha cruzado la membrana apical y lo lleva a la membrana basolateral, donde entrega el ion de Zn al transportador intestinal de Zn1 (ZNT1), que mueve el ion de Zn al líquido intersticial, donde se encuentra unido a la albumina (Alb). (B) cuando el cuerpo tiene suficiente Zn, la cantidad de ZIP4 en la membrana apical se regula a la baja. Los enterocito también comienzan a producir grandes cantidades de metalotioneínas (MTs), que se unirá a la mayor parte de cualquier ion de Zn adicional que atraviese la membrana apical. La MTs puede ceder iones de Zn al acompañante de ZnT7 para su exportación, pero lo hace muy lentamente. Esto se ralentiza la tasa de absorción del Zn, El Zn unido a la Mts cuando la célula muere y se desprende será excretado en las heces (Goff 2018)

Biodisponibilidad del zinc

Existen factores que afectan la biodisponibilidad del Zn, dos factores dietarios que podrían modificar la eficiencia de la absorción de Zn, uno es la interacción de Zn con otros metales iónicos; ésta dependerá de la fuente y nivel de concentración (Goff, 2018); excesivo Fe dietario puede interferir en la absorción del Zn en todas las especies (Gammoh y Rink, 2017),.

el cadmio interfiere en la absorción de Zn y Cu (National Research Council, 2005), dietas altas en sulfato (-S) interfieren en la absorción del Zn; el sulfato puede reducirse a sulfito y puede interactuar con el Zn para formar sulfito de Zn insoluble (ZnS) mediante uniones irreversibles en el lumen intestinal (Goff, 2018). El segundo se debe a la presencia de agentes quelatantes en las dietas como son: concentración de fitatos (hexafosfato de mioinositol) presentes en los ingredientes de los alimentos, edad, sexo, estado de salud y actividad de los animales (Acda y Chae, 2002), que presentan la característica de un detrimento en la disponibilidad del Zn de la dieta (Yu et al. 2010). En no rumiantes sólo una cantidad pequeña de fitatos son digeridos por las fitasas endógenas del tracto gastrointestinal (National Research Council, 2005).

La utilización en concentraciones mayores de Zn ha ido aumentando en las dietas de algunas especies, debido a sus altas tasas de crecimiento (Brugger y Windisch, 2017). Los síntomas de deficiencia de Zn son particularmente prominentes en el sistema digestivo, inmune, nervioso, endocrino y tegumentario (Levaot y Hershinkel, 2018). La deficiencia de Zn también afecta el desarrollo sexual en machos y una respuesta inmune suprimida (Prasad y Bao, 2019). Estudios previos mostraron que la deficiencia causa pérdida de apetito, reduce la eficiencia de la utilización del alimento y retarda el crecimiento (Sahin et al., 2009).

Requerimientos de zinc para conejos

En conejos se ha documentado poco acerca de estudios de minerales, específicamente del elemento Zn. Los requerimientos de Zn para conejos se han establecido en un intervalo de 25 a 60 mg Zn kg⁻¹ de dieta (De Blas y Mateos, 2010), y la concentración máxima es de 150 ppm Zn definido por la Unión Europea (National Research Council, 2005); sin embargo, diversos estudios han enfatizado el uso de mayores concentraciones de Zn, mejora el desempeño de la ganancia de peso (Alimohamady et al., 2018; Biotechnology et al., 2018), mayores pesos de camadas al nacimiento (Alikwe et al., 2011), así como en características de producción seminal en sementales (Narasimhaiah et al., 2018; Baiomy et al., 2018). Adicionalmente influye en disminución de incidencia de diarreas durante el periodo de engorda (Yan et al., 2017).

Características de las fuentes del zinc.

En la producción animal eficiente es necesario que los minerales se encuentren en cantidades requeridas de acuerdo a estado fisiológico de la especie, con ello la biodisponibilidad del elemento dependerá de la fuente suministrada (Pechin, 2015). Los minerales inorgánicos resultan en un alto nivel de excreción del mineral, esto es perjudicial para el ambiente (Mohd Yusof et al., 2019). El uso de complejos orgánicos de minerales quelatados a mucho más baja concentración para dietas ha sido surgido como una respuesta, basado sobre la hipótesis que tales complejos minerales tiene una más alta biodisponibilidad que las sales inorgánicas (Brugger y Windisch, 2015). Lo cual posiblemente reduzca la excreción de Cu y Zn usando minerales orgánicos. Investigaciones han mostrado que las biodisponibilidades de diferentes formas de minerales traza pueden variar significativamente, en particular, las fuentes de Zn orgánicas son más biodisponibles que las fuentes inorgánicas en diferentes especies animales como pollos de engorda, gallinas de postura (Cui et al., 2017) y cerdos, mientras en conejos se ha estudiado poco.

Algunos estudios recientes reportan que el Zn orgánico es más biodisponible comparado con el Zn inorgánico (Abuajamieh et al., 2020). El cual tiene un mejor impacto en la nutrición animal, por el hecho de que poseen una mejor disponibilidad. Se ha observado que esta biodisponibilidad de Zn es mayor en forma de metionato de Zn (206 %), de sulfato de Zn (100%); sin embargo, el óxido de Zn sólo tiene un 61% de biodisponibilidad (Xu et al., 2017). Adicionalmente, las fuentes orgánicas presentan un nivel óptimo de producción y crecimiento con una menor contaminación ambiental (Salim et al., 2012).

Impacto de zinc con calidad de carne

La carne de conejo en comparación a la carne de otras especies domésticas, tiene un alto porcentaje de proteína, y un bajo contenido de grasa (Zotte Dalle, 2002). Adicionalmente, la grasa de conejo tiene baja proporción de colesterol (Wang et al., 2016) y un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (oleico y linoleico); estas características de composición hacen que la carne de conejo sea especialmente recomendada para prevenir enfermedades cardiovasculares (Hermida et al., 2006), constituyendo un alimento de alta calidad, adecuado

para regímenes alimentarios orientados a prevenir o atenuar enfermedades cardiovasculares, siendo también recomendado en la alimentación de niños y ancianos (Zotte Dalle, 2002). La carne de conejo es similar con el pollo y ternera con valores similares en cuanto a proteína y grasas (Cuadro 1), aunque en este último, las proporciones son diferentes, siendo la carne de conejo más baja en grasa y colesterol (Ramírez-Télles, 2004).

Cuadro 1. Composición química de la carne de las principales especies domésticas.

Característica	Conejo	Pollo	Bovino	Cerdo
Humedad (g/100 g)	68.5 ± 1.05	68.1 ± 1.19	53.2 ± 1.21	43.7 ± 2.13
Proteína	21.2 ± 0.79	20.1 ± 0.27	26.3 ± 0.16	27.3 ± 0.22
Grasa	9.2 ± 0.38	10.8 ± 0.08	19.6 ± 0.09	28.2 ± 0.13
Ceniza	1.1 ± 0.08	1.0 ± 0.05	0.9 ± 0.07	0.8 ± 0.11
Calcio	21.4 ± 0.09	12.1 ± 0.04	10.9 ± 0.38	9.3 ± 0.47
Fósforo	347 ± 0.26	252 ± 0.06	179 ± 3.62	176.4 ± 3.36
Sodio	40.5 ± 0.89	71.4 ± 0.92	63 ± 0.90	67.3 ± 0.91
Colesterol	56.4 ± 0.92	68.3 ± 2.14	114.5 ± 11.68	108.4 ± 10.31

Fuente: (Nistor et al. 2013).

La composición de la carne es una de los aspectos más importantes después del sacrificio. Los atributos de la calidad de carne como el pH, color, capacidad de retención de agua (CRA) y textura no pueden considerarse independientes, ya que todos están relacionados entre sí y su interacción proporciona las características globales de la calidad de la carne (Hernández Bautista et al., 2015). En otras especies se ha reportado que el Zn orgánico mejora la conversión alimenticia en pollos de engorda (El-hack et al., 2017) y mejora el sistema inmunitario, disminuyendo la tasa de mortalidad (Alikwe et al., 2011). Adicionalmente, las concentraciones han favorecido la retención de Zn en carne (Nagalakshmi et al., 2016).

Impacto de zinc en la reproducción

El Zn es uno de los microminerales involucrado con la capacidad reproductiva (Fallah et al., 2018). El Zn está involucrado en las funciones reproductivas del macho por su alta actividad a nivel molecular en los procesos de transcripción del ADN (Fallah et al., 2018).

El papel del Zn en la protección de las células germinales testiculares (Sankako et al., 2012), interviene en las propiedades mecánicas de fibras accesorias, morfología de la cola y en la motilidad espermática (Tvrdá et al., 2013). El Zn está presente en los espermatozoides y en el plasma seminal, en una concentración considerablemente alta con respecto a otros fluidos (Marzec-Wróblewska et al., 2012). El Zn en espermatozoides inmaduros está principalmente localizado en las fibras densas externas del flagelo, donde a los grupos sulfhídricos de la cisteína, la mayoría de su contenido se reduce durante la maduración del espermatozoide del epidídimo, lo que conduce a un aumento de la estabilización de las proteínas de fibras densas externas por oxidación de los grupos sulfhídricos a puentes disulfuro, esta estabilización de las proteínas de fibra densa externa podría ser un paso esencial para la generación de la motilidad espermática, especialmente en la motilidad progresiva (Tvrdá et al., 2013). La disminución de la concentración de Zn en el plasma seminal puede deberse a una ingesta inadecuada, baja absorción, incremento de pérdidas o incremento de la demanda del elemento (Zhao et al., 2016). La deficiencia de Zn está correlacionada con la disminución de la fertilidad (Chu, 2018); debido a ello, el Zn afecta directamente el desarrollo de las células de Leydig (Ortega, 2016).

El Zn juega un papel importante en la espermatogénesis, en la respuesta a la LH, desarrollo de las células de Leydig y en la reproducción de esteroides a nivel testicular. Entre los efectos adversos por las deficiencias de Zn, cabe destacar el deficiente desarrollo testicular en animales jóvenes, lo que ocasiona falta de libido, altera el proceso de espermatogénesis y disminuye la fertilidad (Salazar and Carrillo-Gonzalez, 2016; Kumar et al., 2006).

Los estudios en calidad seminal en conejos, se han centrado principalmente en los parámetros relacionados con la fertilidad; como el número de espermatozoides y la motilidad, usados para inseminar a las hembras (Alvarez et al., 2015). Altos niveles de Zn son recomendados para la reproducción (Mahmood et al., 2011), con respecto a mantenimiento o producción de carne (Mateos et al., 2010); sin embargo, hay poca información acerca de la cinemática de movimiento y calidad seminal, con respecto a los diferentes elementos que intervienen durante el proceso de la formación y capacitación del espermatozoide.

Importancia del Zinc en la calidad espermática

El Zinc es un micronutriente que se requiere para la acción de más de 200 metaloenzimas. Éstas juegan un rol importante en la fertilidad de los machos, por lo que en una deficiencia de este mineral puede impedir la espermatogénesis y disminuir los niveles de testosterona (Wong et al., 2002). Varios estudios han mostrado que juega un rol central en el crecimiento normal testicular, espermatogénesis, y fisiología del espermatozoide (Eleazar et al., 2005)

Este mineral interviene en los procesos fisiológicos que ocurren durante el desarrollo de los mamíferos, y realiza funciones de almacenamiento y liberación de insulina; confiere integridad a la membrana celular y actúa en procesos de reproducción y maduración sexual (Chyb, 2000).

Literatura citada

- Abdulrashid, M, and D T Juniper. 2016. "Effect of dietary protein, selenium and temperature humidity index on reproductive traits of male rabbits in a tropical environment." *J. Anim. Prod. Res* 28 (2): 61–65.
- Abuajamieh, Mohannad, Anas Abdelqader, Rabie Irshaid, Firas M F Hayajneh, far M Al-Khaza, and Abdur-Rahman Al-Fataftah. 2020. "Effects of organic zinc on the performance and gut integrity of broilers under heat stress conditions." *Arch. Anim. Breed* 63: 125–35. <https://doi.org/10.5194/aab-63-125-2020>.
- Alikwe, P. C. N., T. I. Ojiezeh, and S. A Olagboye. 2011. "Effects of zinc supplement on rabbits performance and growth rate." *Journal of Agriculture and Social Research* 11 (2): 46–50.
- Alimohamady, Reza, Hassan Aliarabi, Rupert M. Bruckmaier, and Rachael G. Christensen. 2018. "Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs." *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1448-1>.
- Alvarez, G. C. V., E. F. y Arellano, and C. L. A. Perz. 2015. "Técnicas de estudio para la evaluación del daño al ADN y su aplicación en la producción animal." *Senasa* 7: 21–37.
- Amen, M Hassan M., and Sarmad Sulaiman Muhammad. 2016. "Effect of zinc supplementation on some physiological and growth traits in local male rabbit." *World's Veterinary Journal* 6 (3): 151–55.

- Amen, Mahmood H.M., and Hazim J. Al-Daraji. 2011. "Effect of dietary zinc supplementation on some seminal plasma characteristics of broiler breeders' males." *International Journal of Poultry Science*. <https://doi.org/10.3923/ijps.2011.814.818>.
- Bafaro, Elizabeth, Yuting Liu, Yan Xu, and Robert E. Dempski. 2017. "The emerging role of zinc transporters in cellular homeostasis and cancer." *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2 (April): 1–12. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.29>.
- Baiomy, A.A., H. H. M. Hassanien, and K. R. S. Emam. 2018. "Effect of zinc oxide levels supplementation on semen characteristics and fertility rate of bucks rabbits under subtropical conditions." *Egyptian Journal of Rabbit Science* 28 (2): 395–406. http://khartoumspace.uofk.edu:8080/bitstream/handle/123456789/8080/effect_of_zinc_supplementation.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Bao, Y. M., and M. Choct. 2009. "Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: A Review." *Animal Production Science* 49 (4): 269–82. <https://doi.org/10.1071/EA08204>.
- Blas, C. De, and G. G. Mateos. 2010. *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. CAB International. Wallingford: CABI.
- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch. 2015. "Environmental responsibilities of livestock feeding using trace mineral supplements." *Animal Nutrition* 1 (3): 113–18. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.08.005>.
- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch. 2017. "Strategies and challenges to increase the precision in feeding zinc to monogastric livestock." *Animal Nutrition* 3 (2): 103–8. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.03.002>.
- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch .2019. "Zn metabolism of monogastric species and consequences for the definition of feeding requirements and the estimation of feed zn bioavailability." *Journal of Zhejiang University- Science B* 20 (8): 617–27. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900024>.
- Cavalcante, Guimarães, and Motta W Ferreira. 2000. "Bioavailability of dietary zinc sources for fattening rabbits." *World Rabbit Congress*. <https://world-rabbit-science.com/WRSA-Proceedings/Congress-2000-Valencia/Papers/Nutrition&Digestion/N28-Guimaraes-Cavalcante.pdf>.
- Chrastinová, L., K. Čobanová, M. Chrenková, M. Poláčiková, Z. Formelová, A. Lauková, L. Ondruška, et al. 2015. "High dietary levels of zinc for young rabbits." *National Agricultural and FEED Centre* 48 (2): 57–63.
- Chrastinová, L., K. Čobanová, M. Chrenková, M. Poláčiková, Z. Formelová, A. Lauková, L. Ondruška, et al. 2016. "Effect of dietary zinc supplementation on nutrients

- digestibility and fermentation characteristics of caecal content in physiological experiment with young rabbits.” *National Agricultural and FEED Centre* 49 (1): 23–31.
- Chu, Diana S. 2018. “Zinc: A small molecule with a big impact on sperm function.” *PLoS Biology* 16 (6): 6–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006204>.
- Chu, Qingqing, Zhi Hong Chi, Xiuli Zhang, Dan Liang, Xuemei Wang, Yue Zhao, Li Zhang, and Ping Zhang. 2016. “A potential role for zinc transporter 7 in testosterone synthesis in mouse leydig tumor cells.” *International Journal of Molecular Medicine* 37 (6): 1619–26. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2576>.
- Chyb, J., T. Mikolajczyk, P. Szczerbik, and P. Epler. 2000. “The influence of zinc on sperm motility of common carp - a computer assisted studies.” *Archiwum Rybactwa Polskiego* 08 (1): 4–14.
- Colagar, Abasalt Hosseinzadeh, Eisa Tahmasbpour Marzony, and Mohammad Javad Chaichi. 2009. “Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men.” *Nutrition Research* 29 (2): 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2008.11.007>.
- Cui, H., T. Zhang, H Nie, Z. Wang, X. Zhang, B Shi, X. Xing, F Yang, and X. Gao. 2017. “Effects of different sources and levels of zinc on growth performance, nutrient digestibility, and fur quality of growing-furring male mink (*Mustela Vison*).” *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1081-4>.
- Dalle Zotte, A., and Z. Szendro. 2011. “The role of rabbit meat as functional feed.” *Meat Science* 88: 319–31. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.017>.
- El-hack, M E Abd, M. Wahdan, S A Amer, M Arif, K M M Wahdan, and M. S. El-Kholy. 2017. “Effect of dietary supplementation of organic zinc on laying performance , egg quality and some biochemical parameters of laying hens.” *J Anim Physiol Anim Nutr* 120 (2): e542–49. <https://doi.org/10.1111/jpn.12793>.
- El-Tarabany, Mahmoud Salah, Khairy El-bayomi, and Tamer Abdelhamid. 2015. “Semen characteristics of purebred and crossbred male rabbits.” *PLoS ONE* 10 (5): 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128435>.
- Fallah, Ali, Azadeh Mohammad-Hasani, and Abasalt Hosseinzadeh Colagar. 2018. “Zinc is an essential element for male fertility: a review of zn roles in men’s health, germination, sperm quality, and fertilization.” *Journal of Reproduction and Infertility* 19 (2): 69–81.
- Gammoh, Nour Zahi, and Lothar Rink. 2017. “Zinc in infection and inflammation.” *Nutrients* 9 (6). <https://doi.org/10.3390/nu9060624>.

- García-Contreras, Adelfa, Yasmin De Loera, Carlos García-Artiga, Antonio Palomo, Jesús A. Guevara, José Herrera-Haro, Carmen López-Fernández, Steve Johnston, and Jaime Gosálvez. 2011. "Elevated dietary intake of zn-methionate is associated with increased sperm DNA fragmentation in the boar." *Reproductive Toxicology* 31 (4): 570–73. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.12.003>.
- García contreras, Adelfa del Carmen. 2010. Efecto de la fuente de zinc en la morfometría testicular y epididimaria, Así como su relación con la producción y calidad seminal del verraco.
- Goff, Jesse P. 2018. "Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status." *Journal of Dairy Science* 101 (4): 2763–2813. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13112>.
- Hermida, M., M. Gonzalez, M. Miranda, and J. L. Rodríguez-Otero. 2006. "Mineral analysis in rabbit meat from Galicia (NW Spain)." *Meat Science* 73: 635–39. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.004>.
- Hernández Bautista, J., J. L. Aquino López, and A. Palacios Ortiz. 2015. "Rendimiento de la canal, color de la carne y evolución del pH muscular de conejos." *Nacameh* 9 (2): 66–76.
- Jarosz, Łukasz, Agnieszka Marek, Zbigniew Grądzki, Ewa Laskowska, and Małgorzata Kwiecień. 2019. "Effect of zinc sulfate and zinc glycine chelate on concentrations of acute phase proteins in chicken serum and liver tissue." *Biological Trace Element Research* 187 (1): 258–72. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1346-6>.
- Kerns, Karl, Michal Zigo, and Peter Sutovsky. 2018. "Zinc: a necessary ion for mammalian sperm fertilization competency." *International Journal of Molecular Sciences* 19 (12). <https://doi.org/10.3390/ijms19124097>.
- Khoobakht, Zeinab, Mehrdad Mohammadi, Mohammad Roostaei Ali Mehr, Fahimeh Mohammadghasemi, and Mohammad Mehdi Sohani. 2018. "Comparative effects of zinc oxide, zinc oxide nanoparticle and zinc-methionine on hatchability and reproductive variables in male japanese quail." *Animal Reproduction Science* 192 (October 2017): 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.017>.
- Kimura, Tomoki, and Taiho Kambe. 2016. "The functions of metallothionein and zip and znt transporters: an overview and perspective." *International Journal of Molecular Sciences* 17 (3): 10–12. <https://doi.org/10.3390/ijms17030336>.
- Kloubert, Veronika, and Lothar Rink. 2015. "Zinc as a micronutrient and its preventive role of oxidative damage in cells." *FEED and Function* 6 (10): 3195–3204. <https://doi.org/10.1039/c5fo00630a>.

- Kumar, Ashok, Mohd Arif Scholar, SS Kadam, and Mohd Arif. 2018. "Zinc mediated agronomic bio-fortification of wheat and rice for sustaining feed and health security: a review." *International Journal of Chemical Studies IJCS* 6 (61): 471–75.
- Kumar, N., R. Verma, L. Singh, Vi. Varshney, and R. Dass. 2006. "Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (*Bos indicus* × *Bos taurus*) bulls." *Reprod. Nutr. Dev* 46 (6): 663–75. <https://doi.org/10.1051/rnd:2006041>.
- Kumar, Vinod. 2015. "Effect of minerals on dairy animal reproduction - a review." *International Journal of Livestock Research* 5 (6): 1. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20150627091925>.
- Levaot, Noam, and Michal Hershinkel. 2018. "How cellular Zn²⁺ signaling drives physiological functions." *Cell Calcium* 75: 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2018.08.004>.
- Marzec-Wróblewska, U., P. Kaminski, and P. Lakota. 2012. "Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa." *Folia Biologica (Czech Republic)* 58 (1): 7–15.
- Mateos, G. G., P. G. Rebollar, and C. de Blas. 2010. "Minerals, vitamins and additives." in *nutrition of the rabbit*, 119–50. Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845936693.0119>.
- Meshreky, S. Z., S. M. Allam, M.A.F. El-Manilawi, and H F Amin. 2015. "Effect of dietary supplemental zinc source and level on growth performance, Digestibility Coefficients and Immune Response of New Zealand White Rabbits." *Egyptian J. Nutrition and Feeds* 18 (2): 383–90.
- Milostić-Srb, Andrea, Aleksandar Včev, Marijan Tandara, Svjetlana Marić, Vesna Kuić-Vadlja, Nika Srb, and Dubravka Holik. 2020. "Importance of zinc concentration in seminal fluid of men diagnosed with infertility." *Acta Clinica Croatica* 59 (1): 154–60. <https://doi.org/10.20471/acc.2020.59.01.19>.
- Mohd Yusof, Hidayat, Rosfarizan Mohamad, Uswatun Hasanah Zaidan, and Nor Aini Abdul Rahman. 2019. "Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review." *Journal of Animal Science and Biotechnology* 10 (1): 1–22. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0368-z>.
- Murarka, S, V Mishra, P Joshi, and Kumar Sunil. 2015. "Role of zinc in reproductive biology - an overview." *Austin J Reprod Med Infertil.* 2 (2): 1009.
- Nagalakshmi, D., K. Sridhar, P. S. Swain, and A. G. Reddy. 2016. "Effect of substituting increasing levels of organic zn for inorganic zn on performance, hematological and

- serum biochemical constituents, antioxidant status and immune response in rat.” Iranian Journal of Veterinary Research 17 (2): 111–17. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2016.3735>.
- Narasimhaiah, M., A. Arunachalam, S. Sellappan, V. K. Mayasula, P. R. Guvvala, S. K. Ghosh, V. Chandra, J. Ghosh, and H. Kumar. 2018. “Organic zinc and copper supplementation on antioxidant protective mechanism and their correlation with sperm functional characteristics in goats.” *Reproduction in Domestic Animals* 53 (3): 644–54. <https://doi.org/10.1111/rda.13154>.
- National Research Council. 2005. “Mineral tolerance of animals, second revised edition.” The National Academies Press, Washington, DC, 210–23. <https://doi.org/hhttp://doi.org/10.17226/11309>.
- Nistor, E, V A Bampidis, N Păcală, M Pentea, J Tozer, and H Prundeanu. 2013. “Nutrient content of rabbit meat as compared to chicken, beef and pork meat.” *Journal of Animal Production Advances Nutrient* 3 (4): 172–76. <https://doi.org/10.5455/japa.20130411110313>.
- Oliveira, C. E. A., C. A. Badú, W. M. Ferreira, E.B. Kamwa, and A. M. Q. Lana. 2004. “Effects of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders.” Congress, 8th World Rabbit Congress, 315–21.
- Ortega, Yasmín Gpe de Loera. 2016. “Efecto de la fuente y nivel de zinc en el comportamiento productivo de machos no castrados (40-110 Kg) y su relación con el comportamiento sexual.” Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Park, S Y, S G Birkhold, L F Kubena, D J Nisbet, and S C Ricke. 2004. “Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction.” *Biological Trace Element Research* 101: 147–63.
- Pechin, Guillermo H. 2015. “Comparación de una fuente inorgánica y una fuente orgánica de zinc en ovinos.” Universidad de Buenos Aires.
- Prasad, Ananda S., and Bin Bao. 2019. “Molecular mechanisms of zinc as a pro-antioxidant mediator: clinical therapeutic implications.” *Antioxidants* 8 (6). <https://doi.org/10.3390/antiox8060164>.
- Rahman, H. U., M. S. Qureshi, and R. U. Khan. 2014. “Influence of dietary zinc on semen traits and seminal plasma antioxidant enzymes and trace minerals of beetal bucks.” *Reproduction in Domestic Animals* 49 (6): 1004–7. <https://doi.org/10.1111/rda.12422>.

- Sahin, K., N. Sahin, O. Kucuk, A. Hayirli, and A. S. Prasad. 2009. "Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: a review." *Poultry Science* 88 (10): 2176–83. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00560>.
- Salazar, L, and D Carrillo-Gonzalez, D Hernandez. 2016. "Effect of supplementation with zinc and selenium on seminal quality in pigs." *Rev Colombiana Cienc Anim* 8: 400–410.
- Salim, H M, H R Lee, C Jo, S K Lee, and Bong Duk Lee. 2012. "Effect of sex and dietary organic zinc on growth performance, carcass traits, tissue mineral content, and blood parameters of broiler chickens." *Biol Trace Elem Res*, no. 147: 120–29. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9282-8>.
- Sankako, Michele K., Patricia C. Garcia, Renata C. Piffer, Bruna Dallaqua, Débora C. Damasceno, Oduvaldo C.M. Pereira, Krishna Prahlad Maremanda, Sabbir Khan, and Gopabandhu Jena. 2012. "Zinc protects cyclophosphamide-induced testicular damage in rat: involvement of metallothionein, tesmin and Nrf2." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 64 (3): 1537–46. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(12\)70951-9](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(12)70951-9).
- Shannon, Marcia Carlson, and Gretchen Myers Hill. 2019. "Trace mineral supplementation for the intestinal health of young monogastric animals." *Frontiers in Veterinary Science* 6 (MAR): 1–7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00073>.
- Sloup, V., Ivana Jankovská, S. Nechybová, P. Peřinková, and I. Langrová. 2017. "Zinc in the animal organism: a review." *Scientia Agriculturae Bohemica* 48 (1): 13–21. <https://doi.org/10.1515/sab-2017-0003>.
- Sobhanirad, Saeid, and Dorthe Carlson. 2010. "Effect of zinc methionine or zinc sulfate supplementation on milk production and composition of milk in lactating dairy cows." *Biol Trace Elem Res* 136: 48–54. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8526-3>.
- Star, L., J. D. van der Klis, C. Rapp, and T. L. Ward. 2012. "Bioavailability of organic and inorganic zinc sources in male broilers." *Poultry Science* 91 (12): 3115–20. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02314>.
- Sutovsky, Peter, Karl Kerns, Michal Zigo, and Dalen Zuidema. 2019. "Boar semen improvement through sperm capacitation management, with emphasis on zinc ion homeostasis." *Theriogenology* 137: 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.037>.
- Swain, P. S., S B.N. Rao, D. Rajendran, G. Dominic, and S. Selvaraju. 2016. "Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: a review." *Animal Nutrition* 2: 134–41. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.06.003>.

- Thingholm, T. E., L. Rönstrand, and P. A. Rosenberg. 2020. “Why and how to investigate the role of protein phosphorylation in ZIP and ZnT zinc transporter activity and regulation.” *Cellular and Molecular Life Sciences*, no. 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03473-3>.
- Tomaszewska, Ewa, S. Muszyński, P. Dobrowolski, M. Kwiecień, A. Winiarska-Mieczan, I. Świetlicka, and A. Wawrzyniak. 2017. “Effect of zinc level and source (zinc oxide vs. zinc glycine) on bone mechanical and geometric parameters, and histomorphology in male ross 308 broiler chicken.” *Revista Brasileira de Ciencia Avicola* 19 (1): 159–70. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0285>.
- Tvrda, Eva, Peter Sikeli, Jana Lukáčová, Peter Massányi, Norbert Lukáč, and Eva Tvrda. 2013. “Mineral nutrients and male fertility.” *Journal of Microbiology, Biotechnology and FEED Sciences* 3 (1): 1–14.
- Uriu-Adams, Janet Y, and Carl L Keen. 2010. “Zinc and reproduction: effects of zinc deficiency on prenatal and early postnatal development.” *Birth Defects Res (Part B)* 89: 313–25. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20264>.
- Wang, Jie, Yuan Su, Mauricio A Elzo, Xianbo Jia, Shiyi Chen, and Songjia Lai. 2016. “Comparison of carcass and meat quality traits among three rabbit breeds.” *Korean J. FEED Sci. An.* 36 (1): 84–89.
- Xu, X., L. Liu, S. F Long, X. S. Piao, T. L. Ward, and F. Ji. 2017. “Effects of chromium methionine supplementation with different sources of zinc on growth performance, carcass traits, meat quality, serum metabolites, endocrine parameters, and the antioxidant status in growing-finishing pigs.” *Biol Trace Elem Res* 179: 70–78. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0935-0>.
- Yan, J. Y., G. W. Zhang, C. Zhang, L. Tang, and S. Y. Kuang. 2017. “Effect of dietary organic zinc sources on growth performance, incidence of diarrhoea, serum and tissue zinc concentrations, and intestinal morphology in growing rabbits.” *World Rabbit Science* 25 (1): 43–49. <https://doi.org/10.4995/wrs.2017.5770>.
- Yu, Y., L. Lu, R. L. Wang, L. Xi, X. G. Luo, and B. Liu. 2010. “Effects of zinc source and phytate on zinc absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers.” *Poultry Science* 89 (10): 2157–65. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00486>.
- Yu, Yu, Lin Lu, Su Fen Li, Li Yang Zhang, and Xu Gang Luo. 2017. “Organic zinc absorption by the intestine of broilers in vivo.” *British Journal of Nutrition* 117 (8): 1086–94. <https://doi.org/10.1017/S0007114517001040>.
- Ze-Peng, Y., L. Guo-Wei, and S. Yong-Hui. 2005. “Effect of zinc sulphate and zinc methionine on growth, plasma growth hormone concentration, growth hormone

receptor and insulin-like growth factor-i gene expression in mice.” *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology* 32: 273–78.

Zhao, Jiang, Xingyou Dong, Xiaoyan Hu, Zhou Long, Liang Wang, Qian Liu, Bishao Sun, Qingqing Wang, Qingjian Wu, and Longkun Li. 2016. “Zinc levels in seminal plasma and their correlation with male infertility: a systematic review and meta-analysis.” *Scientific Reports* 6 (October 2015): 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep22386>.

Zotte Dalle, A. 2002. “Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality.” *Livestock Production Science* 75: 11–32.

**CAPÍTULO I. EFFECT OF SOURCE AND CONCENTRATION OF ZINC ON
GROWTH PERFORMANCE, MEAT QUALITY AND MINERAL RETENTION IN
NEW ZEALAND RABBITS¹**

1.1. ABSTRACT

Supplementation of Zn in rabbits diet favors deposition of such mineral in meat and, therefore, it contributes to satisfy the daily requirements of Zn in adults that consume it. A trial was conducted to study the effect of two sources (ZnSO₄ and Zn-methionate) and two concentrations of Zn, along with a control (without Zn), on weight gain, meat quality and muscle retention in New Zealand White (NZW) rabbits during fattening stage. Treatments were randomly assigned to 100 NZW rabbits 40 days old, according to a completely randomized experimental design using a factorial arrangement of treatments (2 × 2 + control). The experimental period was 30 days. In each experimental unit, weight gain, FEED consumption and meat quality, as well as the retention of Zn in serum, liver, loin and leg were recorded. Results showed no differences (P > 0.05) in weight gain and FEED consumption, which can be attributed to diet-added Zn sources (ZnSO₄ and Zn-methionate). FEED conversion was better with the organic source at the highest concentration (P ≤ 0.05). Regarding meat quality, no differences were found (P > 0.05) in legs by source effect and Zn concentration, while in loin, differences (P = 0.02) were found in the index of L* and B*, when the organic source of Zn (Zn-methionate) was supplied. Most retention of Zn on the back occurred when a concentration of 25 mg Zn kg⁻¹ of Zn-methionate was added.

Key words: loin, mineral retention, rabbit tissues.

1.2. INTRODUCTION

Zinc (Zn) is an essential mineral trace (Kambe et al., 2015), which acts as a cofactor in more than 300 enzymes (El-hack et al., 2017) and as a basic component of a family of transcription factors (Xu et al., 2017). It is also involved in the normal growth of superior animals (Sloup et al., 2017), in reproduction (Oliveira et al., 2004), DNA synthesis, cell division, gene expression (Cui et al., 2017) and immune protection (Liu et al., 2011; Yan et al., 2017); however, Zn requirements in non-ruminants are affected by the interaction with antinutritional factors such as phytic acid (Bao & Choct, 2009; Saleh et al., 2018), which is present in the plant ingredients of diets, decreasing digestibility and absorption of Zn in the gastrointestinal tract in chickens (Salim et al., 2012; Zakaria et al., 2017), rabbits (Meshreky et al., 2015), and pigs (Xu et al., 2017), thus, becoming a limiting factor in production.

Studies in rabbits supplemented with Zn-oxide showed an improvement on the weight of pregnant females and their litter at birth (Cavalcante & Ferreira, 2000; Alikwe et al., 2011); on the other hand, males improved the characteristics of semen (Oliveira et al., 2004). Organic Zn is considered an alternative source, due to its better absorption and use (Alimohamady et al., 2018). Supplementation of 80 mg of Zn kg⁻¹ in the form of zinc lactate decreased the incidence of diarrhea in fattening rabbits (Yan et al., 2017). The addition of 100 mg Zn kg⁻¹ of Zn in the form of Glycinoplex-Zn or Bioplex-Zn, improved the availability of Na, K, Fe, Mn and Zn, and in the meat, it increased cholesterol concentration, water retention capacity and energy value (kJ 100 g⁻¹) of the *Longissimus dorsi* muscle (Chrastinová et al., 2016). Supplementation of 200 mg Zn kg⁻¹ in the form of Zn-methionate in growing rabbits increased protein digestibility, weight gain and immune response (Meshreky et al., 2015); however, the studies carried out on meat quality,

considering different concentrations of Zn in the diet are limited; therefore, it was hypothesized that the different concentrations of supplemented Zn do not affect the characteristics of meat and there is a greater accumulation of meat. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of two sources and two concentrations of Zn on weight gain, meat quality and Zn content in muscle, blood and liver of young NZW rabbits.

1.3. MATERIALS AND METHODS

Ethical statement

All procedures for handling, sampling and slaughter of animals were carried out in accordance with the rules of the regulations for the use and care of experimental animals, approved by the Institutional Ethics Committee of “Colegio de Postgraduados” (College of Postgraduates) (April/2018).

Animals

A total amount of 100 NZW rabbits, from both genders and 40 days of age, weighing 905.1 ± 50.5 g were randomly assigned to five treatments. Rabbits were housed into individual cages of galvanized material ($35 \times 40 \times 50$ cm), with an automatic “pacifier type” drinking system and manual feeders, at the facilities of the experimental rabbit farm of “Colegio de Postgraduados”. Experimental animals were housed under the same environmental, hygienic and managerial conditions. During the study environment temperature was $22 \pm 1.5^\circ\text{C}$, the experimental period consisted of 5 days of diet adaptation, followed by 30 days of evaluation. The basal diet (DB) (Table 1) was prepared according to the recommended requirements by De Blas & Wiseman (2010), except for Zn, the sources of Zn evaluated were: inorganic as ZnSO_4 ($\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ with 36.43% of Zn, Sigma Aldrich®) and organic as Zn-methionate (with 12% of Zn, Zinpro®), using

two Zn concentrations on each source. Rabbits were fed with the pelletized diets (3.5 mm diameter) and free access to water.

Table 1.1. Composition of basal diet for fattening rabbits

Ingredient	Amount %	Calculated composition of the diet	
Alfalfa meal	48.70	Digestible energy (kcal kg ⁻¹)	2185
Wheat bran	30.00	Crude protein ¹	15.72
Tejocote meal	10.00	Crude fiber ¹	15.67
Maize	7.50	Dry matter ¹	89.56
Cane molasses	1.00	Ether extract ¹	3.83
Colza oil	1.00	Ash	9.55
Vitamins Premix [†]	0.10	ADF ¹	22.31
Minerals premix ^{††}	0.30	NDF ¹	32.94
Lysine HCL (L-98%)	0.20	Lignin	5.09
Methionine (DL-99%)	0.18	Hemicellulose	10.58
Salt (NaCl)	0.10	Starch	10.74
Threonine (L-98%)	0.10	Lysine	0.79
Tryptophan (L-98%)	0.15	Met + Cys	0.64
Sodium bicarbonate	0.37	Threonine	0.66
Dicalcium phosphate	0.20	Tryptophan	0.34
Coocidiostat	0.10	Zinc (mg kg ⁻¹) ¹	25.5

[†]Vitamins; A 10000 IU, D₃ 1000, E 20.00 mg, K₃ 1.00, B₁ 1.00, B₂ 3.00, B₆ 1.00, niacin 28.00, pantothenic acid 10.00, folic acid 0.20, biotin 0.1, choline 250 and vit B₁₂ 0.01 mg/kg in diet^{††} Cu 4, I 0.25, Fe 15, Mn 5, Co 0.10 and Se 0.1 mg kg⁻¹ of diet. ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber. ¹ Analyzed values.

Experimental design

An array of factorial treatments 2 × 2 + 1 (2 sources × 2 zinc concentrations + one control group) was used under a completely randomized design, whose treatment combinations were as follows: T₁ = DB with no Zn addition, only the input from ingredients (25 mg of Zn kg⁻¹ analyzed diet), T₂= DB + 25 mg Zn kg⁻¹ as ZnSO₄, T₃ = DB +75 mg Zn kg⁻¹ as ZnSO₄, T₄= DB + 25 mg Zn kg⁻¹ as Zn-methionate and T₅=DB + 75 mg Zn kg⁻¹ as Zn-methionate.

Variables and sample collection

Weight gain and feed consumption were recorded weekly, feed conversion was calculated as kg of feed kg⁻¹ of weight gain. At the end of the experiment, animals were slaughtered at the age of 70 days, at the facilities of institutional slaughterhouse. Blood samples were collected, at the time of animal slit, into “vacutainer” probe tubes without anticoagulant to facilitate the separation of the serum, keeping the probe tubes in an inclined position for 3 hours at room temperature, then the blood was centrifuged at 3000 rpm for 15 min at 4°C to obtain the serum; it was stored at -20°C until its analysis. Living weight was recorded at slaughter and the performance of the canal was calculated. Color and pH were measured 10 min after slaughter. Liver, loin and leg samples were obtained from each experimental unit and stored into Ziploc® bags at -80°C until the determination of Zn, protein, fat, moisture, collagen and water retention capacity.

Meat quality analysis

The pH values in meat were estimated using a portable direct reading meter (HANNA INS. INC. Mod. HI 99161. Rhode Island, USA) in *Longissimus dorsi* and *Femoris biceps* for loin and leg, respectively. The color was measured in the same tissue used for pH determination using a colorimeter (Minolta CR-400/410, Tokyo, Japan), by making four measurements clockwise. The water holding capacity was determined based on the technique described by Pérez & Ponce (2013). feed Scan TM equipment (FOSS North America, 8091 Wallace Rd, Eden Prairie, MN, USA) equipped with infrared spectrophotometer with artificial neural network calibration and associated database was used for estimating fat, moisture, protein and collagen in technical products, described and validated by Anderson (2007).

Zn content in serum, feed, liver and muscle

For determination of Zn in blood serum, the methodology described by López-Alonso et al. (2017) was considered, with the following modifications: a pre-digestion with 2 mL of serum and 2.5 mL of nitric acid (69% w/v) was performed for one hour at room temperature; subsequently, 0.5 mL of H₂O₂ (33% w/v) was added and placed into a digester. The temperature was raised to 180°C; the samples were digested for one hour. Once cooled, they were adapted to 10 mL with deionized water and determined by atomic absorption spectrophotometry (AAS) (Varian 220 Fast sequential, Australia). For FEED, liver, loin and leg samples, 1g of wet weight tissue or sample was considered, dehydrated at 90°C for 8 hours; subsequently, the material was incinerated at 550°C for 12 hours in a muffle furnace (Furnace, Scorpion Scientific, A-51130) considering the methodology of Hassan et al. (2017), with the following modifications: samples were digested with 10 mL of 3N HCL; they were placed into a beaker covered with clock glass at 200°C in a digester block, until a light yellow solution was obtained. Once the vapors ceased, the digested solution was filtered with Whatman[®] paper 42. The extract was adapted to 50 mL using deionized water, from which an aliquot of 3 mL was taken, and 6 mL of deionized water were added, determinations were made using AAS. As a quality control of the analytical measurements made in Zn in the three tissues analyzed the following actions were performed: in serum, the recovery of Zn was evaluated by the method of addition; 5 mg Zn L⁻¹ (n = 3) were added to a sample with 2.46 mg Zn L⁻¹. For the liver, loin and leg the homogeneity was evaluated; for this purpose, a composite sample consisting of four subsamples of the organ was considered. Finally, analysis of reagent targets was included for each batch of samples analyzed.

Statistical analysis

The data for weight gain, mineral deposition and meat quality were analyzed using a completely randomized design with a factorial treatment arrangement, which included the sources and concentrations of Zn added to the diet and their interaction. The data were expressed as average \pm standard error, using the GLM procedure of SAS (SAS Institute Inc, ver 2013, Cary, NC, USA). The means for treatments were compared using the Tukey Test ($p \leq 0.05$).

1.4. RESULTS

Weight gain response in rabbits

Results for the addition of Zn to the diet of fattening NZW rabbits are shown in Table 2. The weight gain and weekly feed consumption were no different ($p > 0.05$) between the control, source or concentration of Zn treatments analyzed. With the exception of the feed conversion (FC) that showed interaction ($P \leq 0.05$), which was lower when the organic source was used with the highest concentration of Zn; on the contrary, when using the ZnSO₄ source, the FC increased (Figure 1).

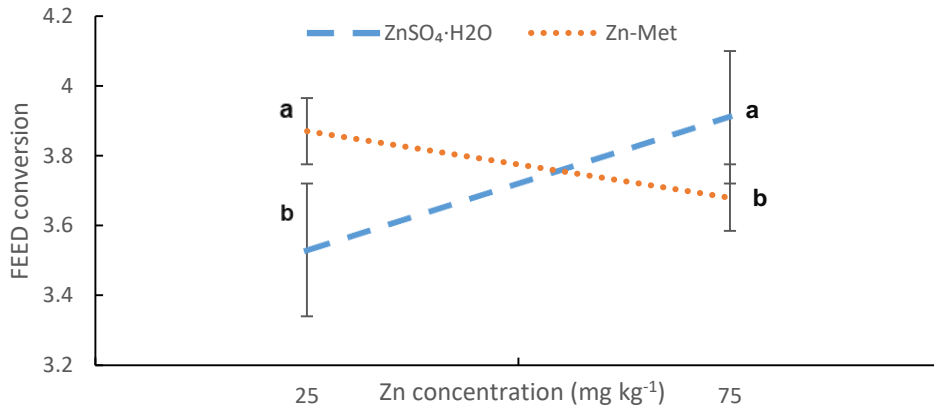


Figure 1.2. Interaction source × concentration of Zn added to the rabbit diet and its effect on feed conversion

Table 1.2. Average for weight gain, feed consumption, feed conversion, live body weight and carcass weight (g) according to the source and concentration of Zn added to the diet.

Items	Control	Zn source		SEM	Zn conc		SEM	P-value		
		ZnSO ₄	ZnMet		25	75		Source	Conc	S x C
S1	32.8	33.0	35.3	2.63	33.1	35.3	2.57	0.346	0.400	0.091
S2	37.4	36.5	37.8	1.73	36.3	38.0	1.76	0.391	0.334	0.110
S3	36.1	36.1	37.4	1.81	37.3	36.2	1.75	0.887	0.550	0.711
S4	34.2	36.3	33.4	1.67	36.5	33.2	1.73	0.137	0.051	0.649
C1	612.8	620.3	624.8	34.59	605.8	639.8	33.59	0.088	0.324	0.768
C2	769.5	758.9	806.9	29.55	772.2	739.5	29.31	0.459	0.474	0.556
C3	893.7	889.9	918.7	27.68	896.2	912.5	26.70	0.818	0.562	0.909
C4	1043.7	1035.2	1083.4	27.72	1065.7	1052.9	27.06	0.385	0.645	0.397
FC	3.78	3.72	3.77	0.09	3.71	3.79	0.10	0.602	0.359	0.005
PV	2038	2031	2075	42.37	2035	2071	42.24	0.355	0.445	0.094
PC	1115	1112	1120	25.46	1100	1136	26.39	0.756	0.145	0.255

Zn Conc = Zn Concentration, S1 Gain in week 1, S2= Gain in week 2, S3= Gain in week 3, S4= Gain in week 4, C1= feed consumption week 1, C2= feed consumption week 2, C3=feed consumption week 3, C4= feed consumption week 4, CA= feed conversion, PV= Live weight, PC= carcass weight, Monohydrated zinc sulfate (ZnSO₄ H₂O with 36.43% zinc), Zinc-methionate (Zn-Met 12% zinc). SEM=Standard error of the mean. No statistical differences between treatments ($P \leq 0.05$)

Meat quality

Characteristics of meat; pH, coloration, collagen content, protein, fat, moisture and water retention capacity of *Biceps femoris* muscle from the leg showed no differences ($p > 0.05$) between the control treatment, source or concentration of Zn. However, in the *Longissimus dorsi* muscle of the loin an effect was found in L* and B* indexes ($p \leq 0.05$), when supplemented with the Zn-Met source (Table 3). In addition, the source and concentration interaction was significant for the B* index in the loin muscle, using the high concentration of the Zn-Met source ($p \leq 0.05$) the response tended to decrease, compared to the ZnSO₄ source (Figure 2). The loin muscle had no differences ($p > 0.05$) in collagen, protein, fat, and moisture and water retention capacity for source effect and Zn concentration.

Zinc content in tissue

Zn content in blood serum (Table 4) was higher for the control, for which Zn was not added ($p = 0.03$), only with the addition of dietary ingredients (25.5 mg Zn kg⁻¹ of diet). Meanwhile, liver is the organ with the highest Zn content but showed no differences ($p > 0.05$) between control, source or concentrations of Zn analyzed. The retention of Zn in *Longissimus dorsi* muscle of the loin was higher ($p=0.02$) when using of 25 mg Zn kg⁻¹ concentration.

Table 1.3. Average values of rabbit meat quality indicators by adding two sources of Zn (Zinc sulfate and Zn-Methionate) at two concentrations (25 and 75 mg Zn kg⁻¹) in the diet.

Items	Control	Zn source		SEM	Zn conc		SEM	P-value		
		ZnSO ₄	ZnMet		25	75		Source	Conc	S × C
Leg										
pH	5.76	5.69	5.70	0.06	5.72	5.67	0.06	0.831	0.468	0.852
L*	48.75	48.21	46.31	1.16	47.34	47.17	1.20	0.486	0.895	0.692
A*	18.09	17.81	17.51	0.59	17.91	17.37	0.61	0.653	0.410	0.363
B*	5.30	5.26	5.01	0.31	5.26	5.02	0.33	0.841	0.443	0.924
Collagen ¹	1.17	1.22	1.15	0.04	1.19	1.18	0.04	0.121	0.897	0.990
Protein ¹	21.97	22.09	22.29	0.15	22.21	22.17	0.13	0.215	0.786	0.508
Fat ¹	2.76	2.71	2.96	0.16	2.71	2.97	0.16	0.135	0.132	0.738
Moisture ¹	74.58	74.50	74.33	0.17	74.51	74.31	0.15	0.319	0.261	0.946
WHC	26.80	27.05	24.32	1.70	25.80	25.63	1.71	0.551	0.906	0.564
Loin										
pH	5.68	5.72	5.62	0.09	5.72	5.62	0.10	0.281	0.308	0.496
L*	47.67 ^a	46.89 ^a	43.82 ^b	1.00	45.23	45.42	1.06	0.024	0.847	0.448
A*	12.16	11.78	11.76	0.48	11.73	11.80	0.42	0.837	0.895	0.348
B*	4.17 ^a	4.18 ^a	3.71 ^b	0.18	3.88	4.01	0.18	0.019	0.563	0.011
Collagen ¹	1.17	1.21	1.09	0.05	1.15	1.14	0.05	0.321	0.943	0.786
Protein ¹	21.54	21.72	21.78	0.16	21.76	21.73	0.16	0.708	0.847	0.973
Fat ¹	6.09	5.42	6.12	0.39	5.67	5.87	0.36	0.087	0.62	0.875
Moisture ¹	71.55	72.10	71.44	0.32	71.87	71.67	0.26	0.053	0.536	0.963
WHC	24.85	24.07	22.51	1.44	23.92	22.63	1.41	0.412	0.490	0.520

Conc Zn=Zn Concentration, L*=Luminosity, A*=Red index, B*=Yellow index, Prot= Protein. WHC= Water holding capacity. ¹Expressed in g 100 g⁻¹. Zinc sulfate monohydrate (ZnSO₄ H₂O with 36.43% zinc), Zinc-methionate (Zn-Met 12% zinc). SEM=Standard error of the mean. Different letters within rows indicate significant difference (P ≤ 0.05).

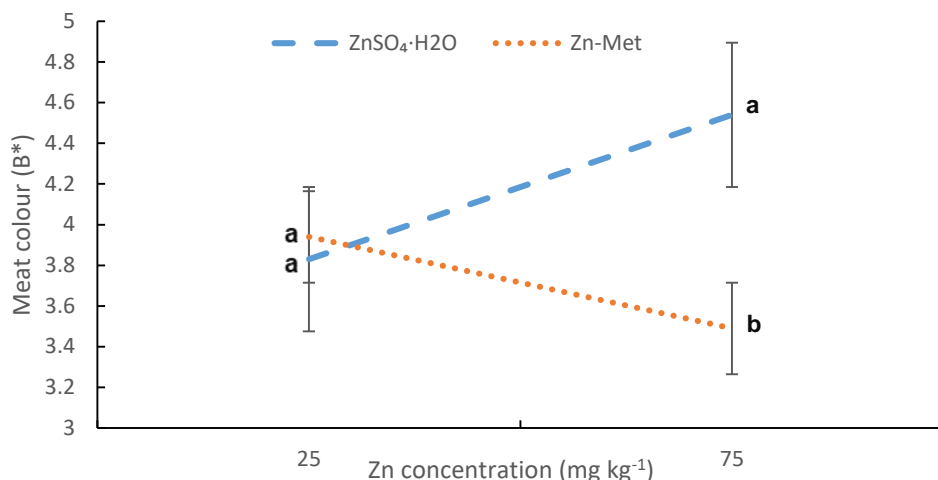


Figure 2. 2. Interaction of the source × concentration of Zn in rabbit diet and its effect on the B* index on *Longissimus dorsi* muscle.

Table 1.4. Average Zn retention values (ppm) in rabbit tissues by adding two sources of Zn (zinc sulfate and Zn-methionate) to two concentrations (25 and 75 mg Zn kg⁻¹) on a diet

Items	Zn source				Zn Conc			P-value		
	Control	ZnSO ₄	ZnMet	SEM	25	75	SEM	Source	Conc	S x C
Serum	2.86 ^a	2.35 ^b	2.41 ^b	0.110	2.54 ^{ab}	2.21 ^{b*}	0.136	0.013	0.030	0.660
Liver	38.21	37.08	32.62	1.965	35.95	33.75	2.162	0.097	0.410	0.070
Leg	10.79	11.42	11.13	0.791	10.97	11.55	0.996	0.767	0.570	0.070
Loin	9.20 ^b	11.94	10.78	0.936	12.80 ^a	9.92 ^{ab}	1.276	0.345	0.022	0.265

Zn Conc =Zn Concentration, Zinc Sulfate Monohydrate (ZnSO₄. H₂O with 36.43% zinc), Zinc-Methionate (Zn-Met 12% zinc). SEM=Standard error of the mean. Different letters indicate significant difference (P ≤ 0.05) (n=10) * Analyte recovery of 87±4 % (n=3).

1.5. DISCUSSION

The inclusion of different concentrations of Zn in diet has been widely used but results are inconsistent. Previous studies concluded that there were no differences in weight gain and feed consumption (Nessrin et al., 2012; Chrastinová et al., 2015), in agreement with the results of this study using ZnSO₄ vs Zn-Met at two concentrations in diet during the fattening stage of rabbits; therefore, weight gain is not influenced by the inclusion of Zn at high concentrations. However,

Yan et al. (2017) reported a weight gain improvement (24.9 g vs 27.7 g) with 80 mg Zn kg⁻¹ of diet in the form of ZnSO₄ vs Zn-Met, respectively. It is important to mention that in our study the weight gain ranged from 32.8-38.0 g d⁻¹, this might be attributed to the genetic component. Meanwhile, in fattening chickens, similar results are reported when the organic sources of Zn (Salim et al., 2012; Zakaria et al., 2017) were included. feed conversion was better by using the concentration 75mg Zn kg⁻¹ of Zn-Met, organic sources improve the digestibility of nutrients (NDF, ADF, Na, K, and Mn) with respect to the inorganic source (Meshreky et al., 2015; Chrastinová et al., 2016).

There is little information regarding the inclusion of Zn and its effect on the characteristics of rabbit meat. In our study, the pH was similar between control and treatments in the *Biceps femoris* muscle of the leg, coinciding partially with what was reported by Chrastinová et al. (2015), showing that pH is not influenced by different concentrations of Zn, but it does by the factor of ant-mortem management (Apata et al., 2012). The coloration and proximal composition (protein, fat, moisture and collagen) in the leg muscle was similar in all treatments, showing that the physical and nutritional properties in the leg (Dalle Zotte & Szendro, 2011) are maintained regardless of the inclusion of Zn.

In the case of *Longissimus dorsi* muscle of the loin, the values of L* and B* decreased when using the inclusion of Zn-Met. This could be related to three positive effects of organic sources; first, Zn from organic source has a higher degree of availability at the level of the small intestine, related to inorganic sources (Chrastinová et al., 2016; Cui et al., 2017); second, the zinc-methionine complex prevents insoluble complexes from forming in the digestive tract (free form of the ion of Zn) and facilitates the transport of Zn through the intestinal mucosa (Meshreky et al., 2015; Zakaria

et al., 2017); third, the transfer of Zn from the intestinal mucosa up to the plasma is regulated by metallothioneins that are dependent on Zn, which influences the maintenance of color (National Research Council, 2005). It should be noted that the A* index is above the interval indicated by De Blas & Wiseman (2010), this could be related to the inclusion of fruit as hawthorn (*Crateagus* spp.) flour in the diet, an ingredient with pectin and antioxidants such as flavonoids, carotenoids and vitamin C (García-Mateos et al., 2013; Cervantes-Paz et al., 2018). In general, the coloration of the loin benefited from the use of the organic sources, color is one of the main attributes considered by consumers (Apata et al., 2012). In addition, no content modifications of protein, fat, moisture and collagen in the loin provided by the rabbit meat were determined (Dalle Zotte & Szendro, 2011). Research on broiler chickens reported an increase of collagen in the skin when high concentrations of organic Zn were used. This advantage helps to keep cells firmly attached and offer greater resistance and flexibility to the skin (Rossi et al., 2007).

The amount of Zn in blood serum has a rapid circulation rate and little storage in the body; therefore, Zn has to be present in the diet (Sloup et al., 2017). In this study we found no positive effect between Zn source or concentration and the content of Zn in the blood, being larger in the control group, in agreement with Nessrin et al. (2012), who reported higher retention of Zn in plasma, hair and urine in the rabbit control group (without inclusion of Zn in the diet). Therefore, this could be attributed to reuse of Zn by the intake of soft feces to cover the minimum requirements of Zn in the body. Soft feces are composed of protein, amino acids, B-complex vitamins and minerals (De Blas & Wiseman, 2010). However, specifically in microminerals, the proportion that is reused with respect to what is ingested is unknown. In chickens (Olukosi et al.,

2018; Ivanišínová et al., 2016), lambs (Alimohamady et al., 2018), and goats (Jia et al., 2009), a positive association of Zn inclusion and blood retention has been reported.

The retention of Zn in the liver was similar between the sources and concentrations studied with respect to the control, such findings contradict other studies (Ivanišínová et al., 2018) that included 200 mg Zn kg⁻¹ in organic form, which increased the retention of Zn in the liver, as well as results of Hassan et al. (2017) with 60 mg Zn kg⁻¹ of Zn oxide nanoparticles, which increased the amount of Zn in water, although in less quantity than in our study; a possible reason of such discrepancies could be the different Zn organic compounds used and their absorption efficiency (Shannon & Hill, 2019), while in posture hens (Abedini et al., 2017), and rats (Nagalakshmi et al., 2016) the ascending concentrations of diet Zn increased its retention in the liver.

In loin, concentration of 25 mg Zn kg⁻¹ in diet favored retention of the element in the muscle. However, the use of the highest concentration of Zn caused the decrease in the concentration of Zn in the muscle, coinciding to what was reported by Cavalcante & Ferreira (2000). This could be related to the status and requirement of Zn in the body, Zn-transporters and proteins associated with the transport to the cells, as a consequence, although Zn is available it is not required by organism, resulting in a low absorption of the element (Kambe et al., 2015).

Zn is necessary for the structure and function of metallothioneins and superoxide dismutase (Liu et al., 2011), thus, regular dietary intake is required to meet the physiological needs of the rabbit (Swain et al., 2016). In addition, by promoting a greater deposition of Zn in rabbit meat, it opens the possibility of generating a functional product to meet the nutritional requirements of Zn in humans. For the human diet, meat is the main source of Zn (Salim et al., 2012). Further studies

with different levels of Zn are needed to determine the best response in the deposition of the element in the rabbit meat without affecting its quality.

1.6. CONCLUSION

Zn supplementation in rabbits during fattening stage improves feed conversion and meat color when organic source is used. Supplementation of 25mg Zn kg⁻¹ in diet increased deposition of Zn on the rabbits loin, which is important to provide larger amounts of Zn for human consumption.

1.7. REFERENCES

- Abedini, M., Shariatmadari, F., Torshizi, M. A. K., Ahmadi, H. 2017. Effects of a dietary supplementation with zinc oxide nanoparticles, compared to zinc oxide and zinc methionine, on performance, egg quality, and zinc status of laying hens. *Livestock Science*, 203, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.06.010>
- Alikwe, P. C. N., Ojiezeh, T. I., Olagboye, S. A. 2011. Effects of zinc supplement on rabbits performance and growth rate. *Journal of Agriculture and Social Research*, 11(2), 46–50.
- Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bruckmaier, R. M., Christensen, R. G. 2018. Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1448-1>
- Anderson, S. 2007. Determination of fat, moisture, and protein in meat and meat products by using the FOSS FEEDScan near-infrared spectrophotometer with FOSS artificial neural Calibration Model and Associated Database: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 90(4), 1073–1084. Retrieved from <http://www.ingentaconnect.com/content/aoac/jaoac/2007/00000090/00000004/art00022>
- Apata, E. S., Eniolorunda, O. O., Amao, K. E., Okubanjo, A. O. 2012. Quality evaluation of rabbit meat as affected by different stunning methods. *International Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 54–58.
- Bao, Y. M., Choct, M. 2009. Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: A review. *Animal Production Science*, 49(4), 269–282. <https://doi.org/10.1071/EA08204>
- Cavalcante, G., Ferreira, M. W. 2000. Bioavailability of dietary zinc sources for fattening rabbits. *World Rabbit Congress*. Retrieved from <https://world-rabbit-science.com/WRSA->

- Cervantes-Paz, B., Ornelas-Paz, J. de J., Gardea-Béjar, A. A., Yahia, E. M., Rios-Velasco, C., Zamudio-Flores, P. B., Ibarra-Junquera, V. 2018. Phenolic compounds of Hawthorn (*Crataegus* Spp.): their biological activity associated to the protection of human health. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(3), 339–349.
- Chrastinová, L., Čobanová, K., Chrenková, M., Poláčiková, M., Formelová, Z., Lauková, A., Grešáková, L. 2015. High dietary levels of zinc for young rabbits. *National Agricultural and FEED Centre*, 48(2), 57–63.
- Chrastinová, L., Čobanová, K., Chrenková, M., Poláčiková, M., Formelová, Z., Lauková, A., Grešáková, L. 2016. Effect of dietary zinc supplementation on nutrients digestibility and fermentation characteristics of caecal content in physiological experiment with young rabbits. *National Agricultural and FEED Centre*, 49, 23–31.
- Cui, H., Zhang, T., Nie, H., Wang, Z., Zhang, X., Shi, B., Gao, X. 2017. Effects of different sources and levels of zinc on growth performance, nutrient digestibility, and fur quality of growing-furring male Mink (*Mustela vison*). *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1081-4>
- Dalle Zotte, A., Szendro, Z. 2011. The role of rabbit meat as functional FEED. *Meat Science*, 88, 319–331. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.02.017>
- De Blas, C., Mateos, G. G. 2010. *Nutrition of the rabbit*, 2nd edition. CAB international. Wallingford: CABI.
- El-hack, M. E. A., Wahdan, M., Amer, S. A., Arif, M., Wahdan, K. M. M., El-Kholy, M. S. 2017. Effect of dietary supplementation of organic zinc on laying performance, egg quality and some biochemical parameters of laying hens. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 120(2), e542–e549. <https://doi.org/10.1111/jpn.12793>
- García-Mateos, R., Ibarra-Estrada, E., Nieto-Angel, R. 2013. Antioxidant compounds in hawthorn fruits (*Crataegus* spp.) of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(4), 1298–1304. <https://doi.org/10.7550/rmb.35675>
- Hassan, F. A. M., Mahmoud, R., El-Araby, I. E. 2017. Growth performance, serum biochemical, economic evaluation and IL6 gene expression in growing rabbits fed diets supplemented with zinc nanoparticles. *Zagazig Veterinary Journal*, 45(3), 238–249. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.999562>
- Ivanišínová, O., Grešáková, L., Ryzner, M., Ocel'ová, V., Čobanová, K. 2016. Effects of feed supplementation with various zinc sources on mineral concentration and selected

- antioxidant indices in tissues and plasma of broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, 85(3), 285–291. <https://doi.org/10.2754/avb201685030285>
- Ivanišinová, O., Ryzner, M., Formelová, Z., Čobanová, K., Chrastinová, Ľ., Grešáková, Ľ., Poláčiková, M. 2018. The effect of different dietary zinc sources on mineral deposition and antioxidant indices in rabbit tissues. *World Rabbit Science*, 26(3), 241. <https://doi.org/10.4995/wrs.2018.9206>
- Jia, W., Zhu, X., Zhang, W., Cheng, J., Guo, C., Jia, Z. 2009. Effects of source of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility and plasma mineral profile in Cashmere goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 22(12), 1648–1653. <https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80649>
- Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A., Isumura, N. 2015. The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiological Reviews*, 95, 749–784. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2014>
- Liu, Z. H., Lu, L., Li, S. F., Zhang, L. Y., Xi, L., Zhang, K. Y., Luo, X. G. 2011. Effects of supplemental zinc source and level on growth performance, carcass traits, and meat quality of broilers. *Poultry Science*, 90(8), 1782–1790. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01215>
- López-Alonso, M., Rey-Crespo, F., Herrero-Latorre, C., Miranda, M. 2017. Identifying sources of metal exposure in organic and conventional dairy farming. *Chemosphere*, 185, 1048–1055. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.112>
- Mateos, G. G., Rebollar, P. G., Blas, C. de. 2010. Minerals, vitamins and additives. In *Nutrition of the rabbit* (pp. 119–150). Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845936693.0119>
- Meshreky, S. Z., Allam, S. M., El-Manilawi, M. A. F., Amin, H. F. 2015. Effect of dietary supplemental zinc source and level on growth performance, digestibility coefficients and immune response of New Zealand White rabbits. *Egyptian J. Nutrition and Feeds*, 18(2), 383–390.
- Nagalakshmi, D., Sridhar, K., Swain, P. S., Reddy, A. G. 2016. Effect of substituting increasing levels of organic Zn for inorganic Zn on performance, hematological and serum biochemical constituents, antioxidant status and immune response in rat. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 17(2), 111–117. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2016.3735>
- National Research Council. 2005. *Mineral Tolerance of Animals, Second Revised Edition*. The National Academies Press, Washington, DC, 210–223. <https://doi.org/http://doi.org/10.17226/11309>

- Nessrin, S., Abdel-Khalek, A. M., Gad, M. S. 2012. Effect of supplemental zinc, magnesium or iron on performance and some physiological traits of growing rabbits. *Asian Journal of Poultry Science*, 6(1), 23–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2012.23.30>
- Oliveira, C. E. A., Badú, C. A., Ferreira, W. M., Kamwa, E. B., Lana, A. M. Q. 2004. Effects of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders. Congress, Eighth World Rabbit Congress, 315–321.
- Olukosi, O. A., Van Kuijk, S., Han, Y. 2018. Copper and zinc sources and levels of zinc inclusion influence growth performance, tissue trace mineral content, and carcass yield of broiler chickens. *Poultry Science*, 97(11), 3891–3898. <https://doi.org/10.3382/ps/pey247>
- Pérez, M., Ponce, E. 2013. *Tecnología de Carnes*. Universidad Autónoma Metropolitana, 1, 110 pp.
- Rossi, P., Rutz, F., Anciuti, M. A., Rech, J. L., Zauk, N. H. F. 2007. Influence of graded levels of organic zinc on growth performance and carcass traits of broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 16(2), 219–225. <https://doi.org/10.1093/japr/16.2.219>
- Saleh, A. A., Ragab, M. M., Ahmed, E. A. M., Abudabos, A. M., Ebeid, T. A. 2017. Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under high ambient temperature. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 820–827. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1407768>
- Salim, H. M., Lee, H. R., Jo, C., Lee, S. K., Duk Lee, B. 2012. Effect of sex and dietary organic zinc on growth performance, carcass traits, tissue mineral content, and blood parameters of broiler chickens. *Biol Trace Elem Res*, (147), 120–129. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9282-8>
- SAS Institute. 2013. *SAS, Institute V. 9.4 Software. Procedure Guide: Statistical Procedures*, second Edition, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Shannon, M. C., Hill, G. M. 2019. Trace mineral supplementation for the intestinal health of young monogastric animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00073>
- Sloup, V., Jankovská, I., Nechybová, S., Peřínková, P., Langrová, I. 2017. Zinc in the animal organism: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 48, 13–21. <https://doi.org/10.1515/sab-2017-0003>
- Swain, P. S., Rao, S. B. N., Rajendran, D., Dominic, G., Selvaraju, S. 2016. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review. *Animal Nutrition*, 2, 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2016.06.003>

- Xu, X., Liu, L., Long, S. F., Piao, X. S., Ward, T. L., & Ji, F. 2017. Effects of chromium methionine supplementation with different sources of zinc on growth performance, carcass traits, meat quality, serum metabolites, endocrine parameters, and the antioxidant status in growing-finishing pigs. *Biol Trace Elem Res*, 179, 70–78. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0935-0>
- Yan, J. Y., Zhang, G. W., Zhang, C., Tang, L., & Kuang, S. Y. 2017. Effect of dietary organic zinc sources on growth performance, incidence of diarrhoea, serum and tissue zinc concentrations, and intestinal morphology in growing rabbits. *World Rabbit Science*, 25(1), 43–49. <https://doi.org/10.4995/wrs.2017.5770>
- Zakaria, H., Jalal, M., AL-Titi, H., & Souad, A. 2017. Effect of sources and Levels of dietary zinc on the performance, carcass traits and blood parameters of broilers. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 19(3), 519–526. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-04>.

CAPITULO II. EFECTO DEL ZINC ORGÁNICO EN EL COMPORTAMIENTO SEXUAL, CALIDAD SEMINAL Y PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA EN CONEJOS

2.1. RESUMEN

El objetivo fue evaluar la respuesta de la inclusión, en la dieta, de concentraciones mayores de zinc (Zn), a las recomendadas en los requerimientos nutricionales, sobre el comportamiento sexual, calidad seminal y producción espermática. Se asignaron aleatoriamente conejos Nueva Zelanda Blanco (n=33) de 5 meses de edad a tres tratamientos: 1) dieta basal (DB) o control, sin adición de Zn, sólo el aporte de los ingredientes de la dieta (25 mg zinc kg⁻¹); 2) 150 Zn: DB más 150 mg de Zn orgánico; 3) 200 Zn: DB más 200 mg de zinc. El diseño experimental fue completamente al azar con 11 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental fue el conejo. Se realizaron 6 sesiones de colección de semen con dos eyaculados por macho. La concentración de zinc en la dieta mostró afectar el pH seminal (p = 0.01), la velocidad curvilínea (VCL; p = 0.03), la distancia curvilínea espermática (DCL; p = 0.007) y el porcentaje de espermatozoides normales (PEN; p = 0.02). El pH fue mayor en el grupo control con respecto a las concentraciones altas de zinc. La VCL, DCL y el PEN en conejos con 200 Zn fueron menores que con 150 Zn y grupo control. Los primeros eyaculados obtuvieron mayores (p = 0.05) potenciales reproductivos debido a: 27.1% menor tiempo de reacción, 87.4 % más de presencia de gel; e incrementos en volumen seminal (42.7%), concentración espermática por eyaculado (41.7%), índice de rectitud espermática (2.8%) y número de dosis seminales (8.3), mientras que la amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide y la distancia curvilínea fueron superiores (p < 0.05) en el segundo eyaculado que el primero. La DB con 25 Zn y aquella con 175.5 Zn mejoraron las características de movilidad, cinemática de movimiento, calidad espermática y potencial reproductivo. La dieta con 225.5 mg zinc Kg⁻¹ afectó negativamente el comportamiento reproductivo de los machos lo que puede impactar la prolificidad y fertilidad de las conejas.

Palabras clave: conejos machos, zinc orgánico, comportamiento reproductivo

2.2 ABSTRACT

The aim was to evaluate the response of the inclusion of greater dietary zinc (Zn) concentrations than those recommended in the nutritional requirements on sexual behavior, semen quality and sperm production in rabbits. Five months old New Zealand White rabbits ($n = 33$) were randomly assigned to three treatments: 1) basal diet (BD) or control, without the addition of zinc, considering only the provision of the ingredients included in the diet ($25.5 \text{ mg zinc kg}^{-1}$); 2) 150 Zn: BD plus 150 mg of organic Zn; 3) 200 Zn: BD plus 200 mg Zn. The experimental design was completely random with eleven repetitions; experimental unit was one buck. Six semen collections sessions were carried out with two ejaculations per buck. The dietary Zn concentration in the diet was shown to affect the seminal pH ($p = 0.01$), curvilinear sperm velocity (VCL; $P = 0.026$), curvilinear sperm distance (DCL; $p = 0.007$) and the percentage of normal sperms (PNS; $p = 0.02$). The seminal pH was greater in the control group than the highest Zn concentrations treatments. The VCL, DCL and PNS in rabbits under 200 Zn were highest than 150 Zn and the control group. First ejaculates showed greater ($p < 0.05$) reproduction potential due to: 27% less reaction time, 87.4% more presence of gel; and increased seminal volume (42.7%), sperm concentration per ejaculate (41.7%), straightness of track (2.8%) and number of seminal doses (8.3), whereas the amplitude of lateral head displacement and curvilinear distance were superior ($p < 0.05$) in the second ejaculate than the second. The BD with 25 Zn and those with 175.5 Zn improved the motility characteristics, sperm kinematics, seminal quality and reproduction potential. The diet with $225.5 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ negatively affected the reproductive performance of male rabbits which may impact doe's prolificacy and fertility levels.

Key words: male rabbits, organic zinc, reproductive performance

2.3 INTRODUCCIÓN

EL zinc (Zn) es un nutriente esencial involucrado en el crecimiento y reproducción animal (Chu et al., 2016; Anwar et al., 2019), interviene en la actividad antioxidante, es un cofactor del Cu (Li et al., 2017; Rahman et al., 2014; Uriu-Adams y Keen, 2010). El Zn es secuestrador de radicales libres de oxígeno (Anwar et al. 2019) además participa en la transcripción de genes y formación de dedos de Zn necesarios para la configuración del ADN (Bojar et al., 2013) y en procesos fisiológicos relacionados con la respuesta inmune (Chen et al. 2019). El Zn se encuentra en altas concentraciones en el sistema reproductivo del macho (Ghorbani et al. 2018), interviene en la síntesis y secreción de testosterona en las células Leydig (Z. Li et al. 2017), participa en el mantenimiento de células germinales y desarrollo de la espermatogénesis (Chen et al. 2019).

Sin embargo, los requerimientos de Zn en no rumiantes se afectan por la interacción con factores antinutricionales como el ácido fítico (Bao y Choct, 2009; Saleh et al., 2018) presente en los ingredientes vegetales de las dietas, disminuyendo la digestibilidad y absorción de Zn en el tracto gastrointestinal en pollos (Salim et al., 2012; Zakaria et al., 2017), conejos (Meshreky et al., 2015) y cerdos (Xu et al., 2017), convirtiéndose en una limitante en la producción. La deficiencia de Zn en machos se evidencia en un retraso en el desarrollo sexual (Prasad y Bao, 2019), ocasionando daños en el retículo endoplásmico de las células de Leydig y atrofia severa de túbulos seminíferos (Murarka et al., 2015; Khoobbakht et al., 2018) lo que aumentan la cantidad de espermatozoides con colas mal formadas y lesiones en el axonema, que influyen en la producción y calidad espermática (Cheah y Yang, 2011; Foresta et al., 2014).

Los requerimientos de Zn para conejos son 35-70 mg Zn kg⁻¹ de dieta (De Blas y Mateos, 2010). Mientras tanto, en machos los requerimientos de Zn son mayores respecto a la etapa de crecimiento, porque es necesario para el desarrollo testicular y en el proceso de espermatogénesis (Kerns et al., 2018; Sutovsky et al., 2019). Evidenciando una atención necesaria a los requerimientos de Zn (Brugger y Windisch, 2019). Estudios al usar concentraciones de 100 o 200 mg Zn kg⁻¹ de dieta en hembras reportaron pesos mayores de camadas al nacimiento (Amen y Sulaiman Muhammad, 2016), mientras en sementales al usar concentraciones de 150 ZnO se mejoró la concentración y motilidad espermática (Baiomy et al., 2018; Oliveira et al., 2004). Sin embargo, estos resultados no son concluyentes en aspectos de calidad y cinemática de

movimientos de los espermatozoides, minimizando la influencia del macho en la fertilidad y prolificidad de las hembras (El-Tarabany et al., 2015). Por ello, es importante considerar la biodisponibilidad de Zn de fuentes orgánicas, ya que esto influye en su absorción y mejora de la fertilidad del macho (Narasimhaiah et al., 2018). Debido a la escasa información acerca de los requerimientos de Zn y sus efectos en la calidad espermática en conejos ha sido poco estudiada, por lo anterior hipotetizamos que inclusiones de Zn orgánicas a concentraciones superiores a los requerimientos establecidos, mejoraría la producción y calidad seminal en sementales. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue estudiar el efecto de concentraciones altas de zinc orgánico en el comportamiento sexual, calidad seminal y producción espermática de conejos Nueva Zelanda Blanco.

2.4. MATERIALES Y METODOS

Declaración ética

Todos los procedimientos de manejo y muestreo de los animales fueron realizados en concordancia con las normas del reglamento para el uso y cuidado de animales experimentales, aprobados por el Comité de ética institucional del Colegio de Postgraduados (abril/06/2019).

Localización

El estudio se realizó en “Conejos” Centro de Investigación Científica del Estado de México A.C. (COCICEMAC), localizado en San Miguel Coatlinchán, Texcoco, Estado de México a 19° 27' N, 98° 53' O y 2,220 m sobre el nivel del mar. La temperatura media anual 15.9°C y 645 mm de lluvias anuales. El trabajo se inició el 19 de julio y finalizó el 21 de septiembre de 2019.

Animales, tratamientos y diseño experimental

Treinta y tres conejos machos Nueva Zelanda Blanco puberales de 5 meses de edad provenientes de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, fueron seleccionados con base en la calidad de sus progenitores al finalizar el periodo de engorda a los 80 días de edad. Los conejos fueron asignados aleatoriamente a uno de tres tratamientos experimentales como sigue: 1) dieta basal (DB) o control, sin adición de zinc, sólo el aporte de los ingredientes incluidos en la dieta (25 mg Zn kg⁻¹); 2) 150 Zn: DB + 150 mg de zinc orgánico, con un total de 175.5 mg Zn Kg⁻¹ de

la dieta; 3) 200 Zn: DB + 200 mg de Zn con un total 225.5 mg Zn Kg⁻¹. El diseño experimental fue completamente al azar con 11 repeticiones por tratamiento, la unidad experimental fue el conejo.

Instalaciones

Los conejos se alojaron en un módulo de ambiente natural con aislamiento térmico tanto en el techo como en paredes y provisto con ventanas laterales. Los machos se mantuvieron en jaulas metálicas individuales (54 x 60 x 40 cm) equipadas con bebederos automáticos y comederos tipo inglés. Los conejos recibieron luz natural. Durante el estudio, la temperatura ambiental promedio fue 18 °C (13 - 23 °C) y humedad relativa de 71 %.

Manejo alimenticio

Se formuló una dieta basal con los ingredientes que se muestran en el cuadro 2.1, de acuerdo a los requerimientos nutricionales recomendado por (De Blas y Mateos, 2010), excepto para Zn. La dieta basal no se le incluyó ninguna fuente de Zn y su aporte solo fue de los ingredientes de 25 mg Zn kg⁻¹ de dieta. Para la preparación de las dietas 150 Zn y 200 Zn, a la dieta basal se le adicionaron 150 y 200 mg de Zn en la forma de metionato de zinc orgánico (Zinpro[®], con 12% de Zn), respectivamente. Las dietas ofrecidas fueron peletizadas y se les administró a los conejos 200 g diarios durante el período experimental. Los consumos de alimento por macho por día fueron registrados.

Contenido de Zinc en la dieta basal

Para la determinación de zinc de la dieta basal, 1 g de muestra húmeda, fue deshidratada a 90°C por 8 horas; posteriormente, el material se incineró a 550°C durante 12 horas en una mufla (Furnace, Scorpion Scientific, A-51130). Considerando la metodología de Hassan et al. (2017), con las siguientes modificaciones: las muestras fueron digeridas con 10 mL de HCL 3 N; fueron colocadas en un vaso de precipitados cubierto con vidrio de reloj a 200°C en un block digestor, hasta obtener una solución de color amarillo claro. Una vez que los vapores cesaron, la solución digerida fue filtrada con papel Whatman[®] 42. El extracto se aforó a 50 mL usando agua desionizada, de éste se tomó una alícuota de 3 mL y se adicionaron 6 mL de agua desionizada, se

determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Varian 220 Fast sequential, Australia). Como control de calidad de las mediciones analíticas realizadas en Zn, se incluyeron análisis de blancos de reactivos en cada lote de muestras analizadas.

Cuadro 2.1 Composición de la dieta basal para conejos

Ingredientes	Cantidad %	Composición de dieta calculada	%
Alfalfa	46.40	Energía digestible (kcal kg ⁻¹)	2185
Salvado de trigo	26.00	Proteína cruda ¹	15.06
Harina de tejacote	18.00	Fibra cruda	18.3
Semilla de girasol completa	7.00	Materia seca ¹	89.93
Melaza de caña de azúcar	1.00	Extracto etéreo ¹	5.81
Premezcla de vitaminas [†]	0.10	Cenizas ¹	9.35
Premezcla minerales ^{††}	0.30	FDA ¹	23.86
Lisina HCL (L- 98%)	0.10	FDN ¹	33.94
Metionina (DL- 99%)	0.18	Lignina	5.87
Cloruro de sodio (NaCl)	0.10	Almidón	6.97
Treonina (L- 98%)	0.10	Lisina	0.74
Triptófano (L- 98%)	0.15	Met+Cys	0.65
Bicarbonato de sodio	0.27	Treonina	0.68
Fosfato bicálcico	0.20	Triptófano	0.34
Coccidiostato	0.10	Zinc (mg/kg) ¹	25.5

[†]Proporcionado por mg kg⁻¹ de dieta: vitamina (vit) A 10000 UI, vitamina D₃ 1000, vitamina E 20.00 mg, vitamina K₃ 1.00, vitamina B₁ 1.00, vitamina B₂ 3.00, vitamina B₆ 1.00, niacina 28.00, ácido pantoténico 10.00, ácido fólico 0.20, biotina 0.1, colina 250, vit B₁₂ .01.

^{††}Proporcionado por mg kg⁻¹ de dieta: Cu 4, I .25, Fe 15, Mn 5, Co .10, Se 0.1 mg. FDA: fibra detergente ácida, FDN: fibra detergente neutra. ¹Valores determinados.

Colección de semen y variables de respuesta

Los sementales iniciaron su periodo de entrenamiento y colecta de semen a las 18 semanas de edad. A la edad de 20 semanas iniciaron el periodo experimental cuya duración fue de 6 semanas. Para la colección de semen se utilizó una vagina artificial tipo inglés y una coneja de apoyo, de acuerdo con la metodología descrita por (Rodríguez-De Lara et al., 2003). El comportamiento sexual fue determinado por el tiempo de reacción que corresponde al intervalo desde el momento de la introducción de la hembra de apoyo y vagina artificial a la jaula del macho a la eyaculación, se midió mediante un cronómetro. La colecta de semen fue realizada una vez por semana los días sábados entre las 12:00 y 16:00 h, considerando dos eyaculados de un mismo semental a un

intervalo de 5 minutos en promedio. Una vez obtenidos los eyaculados se mantuvieron en baño maría a 32° C hasta su evaluación. El volumen se midió directamente en tubos colectores graduados a razón de 0.2 mL. Cuando las muestras presentaban gel, este se removía del tubo colector. El pH del semen se determinó empleando tiras reactivas de pH, cuyos valores oscilan entre 1 y 12 con intervalos de una unidad (Dual Tint®).

Posteriormente cada muestra se diluyó 1:5, 50 µL de semen en 250 µL de solución salina fosfatada (Dulbecco A; Oxoid Inc., UK), se hizo una segunda dilución con una tinción Viadent (Hoechst 33258) 1:1, para lo cual se tomaron 100 µL de la dilución anterior y se colocaron junto con 100 µL de Viadent. La tinción Viadent contiene bisbenzimidá triclorhidrato y utiliza luz fluorescente para determinar el número de células no viables, ya que sólo se tiñen las células que no tienen las membranas intactas. Se tomó una alícuota ($\pm 3 \mu\text{L}$) de la última dilución y fue cargada en una Leja® (porta objeto de profundidad fija desechable, B.V Nieuw-Vennep. The Netherlands) de 20 micrones de profundidad atemperada a 37°C, para su evaluación espermática en el sistema de análisis de semen computarizado (CASA IVOS II, v 1.7, Hamilton Thorne Research, Beverly, MA). Para dicho análisis, las muestras se incubaron por 2 min a 37°C dentro del IVOS II en la Leja.

Las variables de respuesta evaluadas relacionadas con la libido y las características seminales fueron tiempo de reacción (s), presencia de gel en el eyaculado (%), pH y volumen seminal (mL). Las variables determinadas mediante el sistema CASA fueron: concentración espermática por mL ($\times 10^6$), concentración espermática por eyaculado ($\times 10^6$), espermatozoides estáticos (%), motilidad total (%), motilidad progresiva (%), velocidad rectilínea espermática ($\mu\text{m/s}$); VCL: velocidad curvilínea ($\mu\text{m/s}$); VAP: velocidad promedio de trayectoria ($\mu\text{m/s}$); LIN: índice de linealidad (%); STR: índice de rectitud (%); WOB: índice de oscilación (%); ALH: amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (μm); BCF: frecuencia de golpe cruzado (Hz); DSL: distancia de línea recta (Micrones); DCL: distancia curvilínea (Micrones); DAP: distancia promedio de trayectoria (Micrones); viabilidad espermática (%), colas dobladas (%), colas enrolladas (%), gota citoplasmática proximal (%) y gota citoplasmática distal (%). Para la determinación de las variables de respuesta mediante el sistema CASA se analizaron al menos 400 espermatozoides por muestra. Con la información recabada se calcularon el número de

espermatozoides vivos normales motiles por volumen de eyaculado. El número potencial de dosis para uso en inseminación artificial se estimó con base a la variable de respuesta anterior dividido por 5 millones.

Análisis estadístico

Las variables de respuesta fueron sometidas a análisis de varianza considerando el siguiente modelo aditivo lineal:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + E_j + M_k + (T * E)_{ij} + b_1(X_{ijkl} - \bar{X}) + b_2(X_{ijkl} - \bar{X}) + \varepsilon_{ijkl}$$

donde Y_{ijkl} , es la variable respuesta; μ , es la media general; T_i , es el efecto fijo de la i -ésima concentración de zinc en la dieta ($i = 25 \text{ Zn}, 150 \text{ Zn}, 200 \text{ Zn}$); E_j , es el efecto fijo del j -ésimo eyaculado ($j = \text{primero, segundo}$); M_k , es el efecto aleatorio del k -ésimo macho ($k = 1, \dots, 32$) $\sim NI(0, \sigma^2_m)$; $(T * E)_{ij}$ es la interacción entre concentraciones de zinc y orden de eyaculado; b_1 es el coeficiente de regresión lineal de la covariable peso del conejo al momento de la colección de semen; b_2 es el coeficiente de regresión lineal de la covariable sesión de colección de semen y ε_{ijkl} , es el residual $\sim NI(0, \sigma^2_e)$.

Las variables en porcentajes se transformaron utilizando arco seno, el tiempo de reacción y las concentraciones espermáticas mediante log 10. Todos los análisis de varianza se hicieron con los datos originales y transformados. Las covariables que no mostraron un efecto significativo ($p > 0.05$) fueron eliminadas del modelo y se volvió a realizar otra vez. Los análisis de varianza dieron los mismos patrones de respuesta cuando se utilizó los datos transformados y originales. Los resultados del análisis de varianza se presentaron con las unidades originales.

Las variables de respuesta se analizaron mediante medias de cuadrados mínimos utilizando el procedimiento PROC MIXED (SAS Institute 2013). La comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey.

2.5. RESULTADOS

El número de conejos que finalizaron el experimento para los tratamientos control, 150Zn y 200 Zn fueron 11, 11 y 10, respectivamente. El macho en este último tratamiento fue eliminado por falta consistente de libido. Se analizaron estadísticamente un total de 332 registros para las diferentes variables evaluadas. La covariable sesión de colección de semen fue significativa ($p < 0.05$) en 20 de las 27 variables analizadas. Las variables influenciadas por esta covariable se ajustaron a una sesión estándar de 3.6. La covariable peso del macho al momento de la colección de semen influyó ($p < 0.05$) en la distancia de línea recta (DSL) y en distancia curvilínea (DCL) por lo que estas variables fueron ajustadas a un peso estándar de 3721 g.

Comportamiento sexual, características seminales y producción espermática

El efecto de concentraciones de zinc en la dieta y orden de eyaculado en el comportamiento sexual, características seminales y concentración espermática por eyaculado se muestran en el Cuadro 2.2. Los conejos con 150 Zn manifestaron en promedio tiempos de reacción ligeramente más tardíos que aquellos con 200 Zn (+2.1 s) y grupo control (+2.6 s) pero las diferencias no fueron significativas ($p > 0.05$). La presencia de gel y el volumen no fueron influenciadas ($p > 0.05$) por los niveles de zinc en la dieta. Sin embargo, el pH seminal del grupo control fue superior (7.05; $p < 0.01$) y hacia la neutralidad que aquellos con altas concentraciones de Zn orgánico (7.0). El número de espermatozoides por eyaculado en los conejos control tuvieron valores superiores comparados con machos con 150 Zn (+10.9%; +12.4 millones) y 200 Zn (+21.5%; +24.4 millones) pero no se observaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$).

El tiempo de reacción para la obtención del primer eyaculado fue más corto ($p = 0.004$; -2.6 s) que el segundo. Asimismo, la presencia de gel en los primeros eyaculados fue mayor ($p < 0.0001$) que en los segundos (+87.4%). No se encontraron efectos ($p > 0.05$) de orden de eyaculado en el pH seminal. Sin embargo, este factor mostró afectar ($p = 0.0001$) el volumen y la concentración espermática por eyaculado. Para estas últimas variables los valores fueron mayores en el primer eyaculado que el segundo en un 42.7% y 41.7 % más, respectivamente. En promedio, el primer eyaculado produjo 0.32 mL más volumen y 53.6 más millones de espermatozoides por eyaculado que el segundo.

Cuadro 2.2. Concentración de Zn y orden de eyaculado en el comportamiento sexual y características seminales de conejos machos NZB expresado en medias de cuadrados mínimos (\pm EEM).

Variables	Tratamiento				Orden			Valor - <i>P</i>		
	Control	150 Zn	200 Zn	EEM	Primero	Segundo	EEM	T	O	T x O
	N =105	N =119	N =108		N = 171	N = 161				
Tiempo de reacción (s) ^o	7.28	9.89	7.75	1.07	7.00 ^b	9.61 ^a	0.76	0.25	0.0037	0.084
Características seminales										
Presencia de gel (%)	0.35	0.33	0.31	0.04	0.58 ^a	0.073 ^b	0.03	0.93	0.0001	0.309
Volumen (mL)	0.61	0.63	0.56	0.05	0.75 ^a	0.43 ^b	0.04	0.55	0.0001	0.107
pH ^o	7.05 ^a	7.0 ^b	7.0 ^b	0.03	7.01	7.02	0.01	0.01	0.872	0.987
Número de espermatozoides/eyaculado (x 10 ⁶) ^o	113.52	101.08	89.11	9.98	128.52 ^a	74.87 ^b	8.6	0.322	0.0001	0.035

EEM=Error estándar de la Media, T= Tratamiento, O= Orden de eyaculado, T x O= Tratamiento x Orden.

^o - Sesión de colección de semen usada como covariable.

ab - Letras con diferentes superíndices en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$).

Características de movilidad y cinemática de movimiento espermático

En el cuadro 2.3 se muestra el efecto de las concentraciones de zinc en la dieta y orden de eyaculado en el porcentaje de espermatozoides estáticos, motilidad total y progresiva, así como en las características de cinemática de movimiento espermático. Se encontraron ciertas tendencias ($p = 0.11$) de las características de movimiento a ser influenciadas por tratamiento. Los porcentajes de espermatozoides estáticos de conejos con 200 Zn tendieron a ser mayores que con 150 Zn (+28.3%) y el control (+18.3%), mientras que las motilidades espermáticas totales para estos dos últimos tratamientos mostraron valores superiores en un 7.0 y 4.6% con respecto al primero. Asimismo, los porcentajes de espermatozoides motiles progresivos en conejos con 200 Zn tendieron a ser más bajos que con 150 Zn (-7.6) y el control (-10.6%).

Las características de cinemática de movimiento espermático no fueron influenciadas ($p > 0.05$) por los niveles de zinc en la dieta excepto para la velocidad curvilínea (VCL; $p = 0.03$) y distancia curvilínea espermática (DCL; $p = 0.007$). La VCL de los espermatozoides en conejos alimentados con 200 Zn fueron menores que aquellos con 150 Zn (-7.9%) y grupo control (-8.2%), mientras que la DCL de estos dos últimos tratamientos fueron mayores en 8.4 y 9.2% comparados con el primero, respectivamente. Se observaron ciertas tendencias de tratamiento en la velocidad

promedio de trayectoria espermática (VAP; $p = 0.07$) y en las distancias promedio de trayectorias (DAP; $p = 0.06$). Los valores respectivos para VAP y DAP de los conejos con 200 Zn tendieron a ser menores que con 150 Zn (-8.6 y -10.1%) y el control (-9.8 y -9.0%).

Cuadro 2.3. Concentración de Zn y orden de eyaculado en las características de motilidad y cinemática de movimiento espermático de conejos NZB expresado en medias de cuadrados mínimos (\pm EEM).

Variable	Tratamiento				Orden			Valor - P		
	Control N= 105	150 Zn N= 119	200 Zn N= 108	EEM	Primero N = 171	Segundo N = 161	EEM	T	O	T x O
Características de movilidad										
Espermatozoides estáticos (%)°	17.12	15.02	20.95	1.95	18.08	17.31	1.32	0.111	0.583	0.766
Motilidad total (%) °	82.87	84.97	79.04	1.95	81.91	82.68	1.32	0.111	0.581	0.766
Motilidad progresiva (%) °	51.91	50.22	46.39	3.11	50.41	48.58	1.99	0.115	0.292	0.794
Cinemática de movimiento										
VSL ($\mu\text{m/s}$) °	86.72	81.61	77.61	3.46	81.31	82.65	2.19	0.204	0.443	0.313
VCL ($\mu\text{m/s}$)	186.0 ^b	185.4 ^b	170.7 ^a	4.23	176.92	184.65	2.76	0.026	0.576	0.354
VAP ($\mu\text{m/s}$) °	97.41	96.13	87.82	2.98	92.89	94.68	2.34	0.066	0.576	0.698
LIN (%) °	48.38	46.55	47.52	1.38	48.16	46.68	0.91	0.649	0.108	0.096
STR (%) °	79.05	75.89	78.71	1.55	78.9 ^a	76.7 ^b	1.01	0.291	0.016	0.198
WOB (%) °	59.14	59.02	58.24	0.93	58.85	58.75	0.61	0.768	0.852	0.042
ALH (mm) °	7.11	7.29	6.72	0.19	6.89 ^b	7.22 ^a	0.12	0.152	0.003	0.119
BCF (Hz) °	38.12	36.31	37.21	0.56	37.87	36.58	0.57	0.152	0.468	0.957
DSL (Micrones) *°	33.52	30.97	29.04	1.82	31.25	31.11	1.31	0.248	0.876	0.414
DCL (Micrones)*°	73.2 ^a	72.6 ^a	66.5 ^b	1.68	69.7 ^b	71.8 ^a	1.11	0.007	0.048	0.344
DAP (Micrones)	52.82	53.49	48.08	2.65	49.77	53.3	2.15	0.059	0.2471	0.758

VSL ($\mu\text{m/s}$): velocidad rectilínea; VCL ($\mu\text{m/s}$): velocidad curvilínea; VAP ($\mu\text{m/s}$): velocidad media; LIN (%): índice de linealidad; STR (%): índice de rectitud y WOB (%): índice de oscilación; ALH (μm): amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza; BCF (Hz): Frecuencia de Batida de la Cabeza; DSL: Distancia en línea recta, DCL: Distancia en línea curva, DAP= Distancia en el camino promedio.

EEM=Error estándar de la Media, T= Tratamiento, O= Orden de eyaculado, T x O= Tratamiento x Orden.

* - Peso al momento de la colección de semen usada como covariable.

° - Sesión de colección de semen usada como covariable.

ab - Letras con diferentes superíndices en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$).

El orden de eyaculado marcó una diferencia el índice de rectitud espermática (STR; $p = 0.02$), en la amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALH; $p = 0.003$) y en la distancia curvilínea espermática (DCL; $p = 0.05$). El STR fue superior en el primer eyaculado

(+2.8%) mientras que para ALH y DCL los valores fueron superiores en la segunda eyaculación que la primera. Para estas dos últimas variables, en promedio su amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza y su distancia curvilínea entre eyaculados variaron en 0.33 mm y 2.1 micrones, respectivamente.

Características de viabilidad, morfología espermática y potencial reproductivo

Los efectos de las concentraciones de zinc en la dieta y orden de eyaculado en la viabilidad, morfología espermática, producción y número dosis potenciales para uso en inseminación artificial se muestran en el Cuadro 2.4. Los niveles de zinc no afectaron ($p > 0.05$) la mayor parte de las variables relacionadas con estas características. Sin embargo, se observó que los conejos con 200 Zn tendieron ($p = 0.11$) a presentar porcentajes de viabilidad espermática menores en un 2.8 y 1.9% comparados con 150 Zn y el grupo control, respectivamente. El porcentaje de espermatozoides normales fue afectado ($p = 0.02$) por las concentraciones de zinc en la dieta. Conejos con 200 Zn presentaron proporciones menores de normalidad espermática comparados con aquellos con 150 Zn y grupo control en -14.2 y -14%, respectivamente. Asimismo, se encontró que el porcentaje de espermatozoides con presencia de gota distal tendieron ($p = 0.11$) a ser superiores en los conejos con 200 Zn comparados con 150 Zn (+32.8) y el control (+16.1%). La concentración de espermatozoides vivos normales motiles por volumen de eyaculado en el grupo control obtuvieron en promedio valores superiores comparadas con machos con 150 Zn (+9.3 millones) y 200 Zn (+22.9 millones) pero no se observaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$). Con estas concentraciones espermáticas los conejos del grupo control produjeron en promedio 1.8 y 4.6 dosis más que los tratamientos con 150 Zn y 200 Zn en la dieta, respectivamente.

El número de espermatozoides vivos normales motiles por eyaculado y número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial fueron superiores en la primera eyaculación con respecto a la segunda ($P = 0.0001$). Con estas concentraciones mayores espermáticas en el primer eyaculado 8.3 más dosis fueron obtenidas comparadas con el segundo eyaculado.

Cuadro 2.4. Concentración de Zn y orden de eyaculado en características de viabilidad, morfología espermática y número de dosis potenciales para uso en inseminación artificial expresado en medias de cuadrados mínimos (\pm EE).

Variable	Tratamiento				Orden			Valor - P		
	Control N = 105	150 Zn N = 119	200 Zn N = 108	EEM	Primero N = 171	Segundo N = 161	EEM	T	O	T x O
Viabilidad espermática (%) °	93.49	94.33	91.67	0.911	93.1	93.23	0.615	0.115	0.852	0.539
Características de morfología espermática										
Espermatozoides normales (%)	93.4 ^a	93.6 ^a	80.3 ^b	3.199	88.4	88.1	1.891	0.02	0.658	0.808
Espermatozoides con cola doblada (%)	3.11	3.08	3.69	0.385	3.09	3.5	0.264	0.475	0.131	0.646
Espermatozoides con cola enrollada (%) °	1.67	1.63	2.67	0.467	1.98	2	0.296	0.226	0.959	0.465
Espermatozoides con gota distal (%)	8.29	6.64	9.88	1.052	8.83	7.71	0.509	0.107	0.066	0.979
Espermatozoides con gota proximal (%) °	0.65	0.54	0.489	0.061	0.52	0.6	0.041	0.206	0.143	0.567
Potencial reproductivo										
Espermatozoides vivos normales progresivos motiles /eyaculado ($\times 10^6$) °	86.97	77.64	64.08	10.01	97.06 ^a	55.40 ^b	7.421	0.2816	0.0001	0.0558
Dosis potenciales para uso en IA °	17.39	15.59	12.81	2.011	19.41 ^a	11.08 ^b	1.461	0.2816	0.0001	0.0558

EEM=Error estándar de la Media, T= Tratamiento, O= Orden de eyaculado, T x O= Tratamiento x Orden.

° - Sesión de colección de semen usada como covariable.

ab - Letras con diferentes superíndices en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$).

Efectos de interacción niveles de zinc en la dieta x orden de eyaculado

La interacción concentración de zinc en la dieta x orden de eyaculado afectó el número de espermatozoides por eyaculado ($p = 0.03$) e índice de oscilación espermática ($p = 0.04$) como se puede observar en el cuadro 2.5. Las concentraciones espermáticas en el grupo control y 150 Zn fueron diferentes entre el primer y segundo eyaculado (Figura 2.1), mientras que para el tratamiento con 200 Zn no se encontraron diferencias entre eyaculados ($p > 0.05$). Para el caso del primer orden de eyaculado, la producción espermática en conejos con 200 Zn fue menor ($p < 0.05$) comparados con 150 Zn (-30.3%; - 42.7 millones) y el control (-33.2%; - 48.8 millones). El índice de oscilación espermática (WOB) en los primeros eyaculados en los conejos control y 150 Zn mostraron valores inferiores que los segundos eyaculados, pero no fueron diferentes ($p > 0.05$), mientras que para los conejos con 200 Zn el índice fue superior ($p < 0.05$) en el segundo que el primero (Figura 2.2).

Cuadro 2.5. Efectos de interacción entre concentraciones de zinc y orden de eyaculado en la con número de espermatozoides por eyaculado expresado en medias de cuadrados mínimos (\pm error estándar).

Variable	Control		150 Zn		200 Zn		Valor-P
	Primero N = 53	Segundo N = 52	Primero N = 60	Segundo N = 59	Primero N = 74	Segundo N = 81	
Número de espermatozoides/eyaculado ($\times 10^6$) ^o	146.8 \pm 15.4a	79.9 \pm 16.2b	140.7 \pm 14.8a	62.7 \pm 14.9b	98.01 \pm 15.5b	82.0 \pm 15.7b	0.035
Índice de oscilación (%) ^o	58.5 \pm 1.1ab	59.8 \pm 1.1ab	58.9 \pm 1.0ab	59.2 \pm 1.1ab	59.2 \pm 1.1a	57.3 \pm 1.1b	0.042

^o - Sesión de colección usada como covariable.

^{abc} - Letras con diferentes superescritos en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

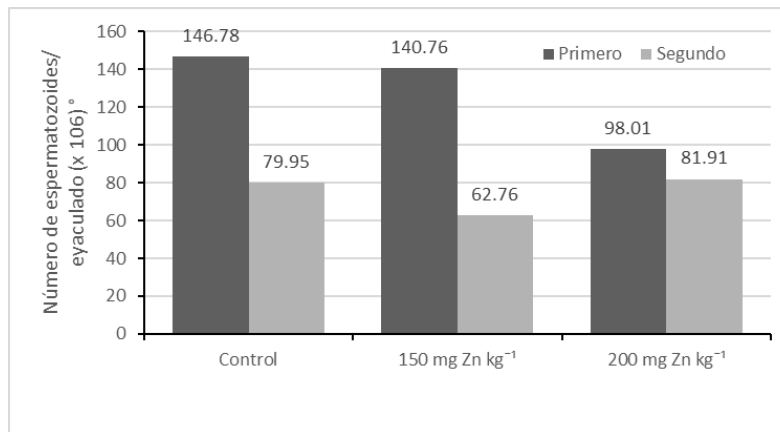


Figura 2.1. Interacción de la concentración de Zn x orden de eyaculado en el número de espermatozoides por eyaculado en machos NZB.

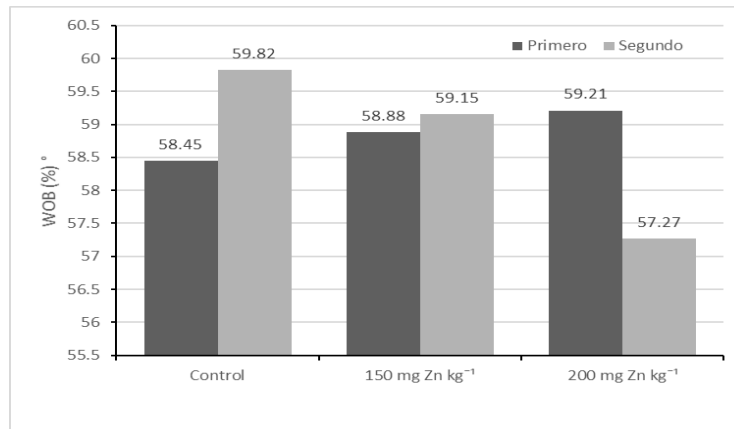


Figura 2.2 Interacción de la concentración de Zn x orden de eyaculado en el índice de oscilación (%) en machos NZB.

2.6. DISCUSIÓN

El objetivo del estudio fue el efecto de la inclusión de diferentes concentraciones de Zn orgánico en la dieta, en la producción y calidad espermática de conejos sementales NZB. De acuerdo a la literatura consultada los requerimientos para zinc están en un rango de 25 a 70 mg Zn kg⁻¹ de dieta (Mateos et al., 2010; Cui et al., 2017). Sin embargo, los requerimientos de zinc en sementales son mayores para proveer una viabilidad espermática óptima (Sutovsky et al., 2019; Kumar et al., 2006; Kelleher et al., 2011), sugiriendo que concentraciones altas de Zn pueden mejorar las características seminales de conejos sementales, en consecuencia la información que hay es parcialmente concluyente en la calidad y parámetros de cinemática de movimiento del espermatozoide y plasma seminal, en concentraciones superiores con respecto a otros fluidos corporales (Tvrdá et al., 2013; Roy et al., 2013; Milostić-Srb et al., 2020).

En las condiciones del presente estudio, se usó el metionato de Zn como fuente orgánica porque tiene una mayor biodisponibilidad que las formas inorgánicas (Yenice et al., 2015; Gresakova et al., 2018; Star et al., 2012), durante la etapa reproductiva de los conejos sementales. Los resultados obtenidos de características seminales: volumen y número de espermatozoides por eyaculado, no están asociados con la concentración de Zn orgánico en la dieta estudiada. Aunque hubo una tendencia al usar la concentración de 150 mg Zn kg⁻¹ de dieta, coincidiendo con estudios previos que usaron 150 mg Zn orgánico kg⁻¹ de dieta, reportando valores similares en volumen (Baiomy et al., 2018). En contraste Oliveira et al, (2004) reportaron mejora en el volumen en los tratamientos respecto al grupo control, estos hallazgos previos no son consistentes con los obtenidos en este estudio, donde el grupo control obtuvo cantidades similares de volumen seminal respecto a los tratamientos estudiados, esto podría atribuirse al origen del componente genético. En otras especies como ovinos, al usar 200 de mg Zn orgánico kg⁻¹ de dieta han reportado efectos positivos sobre la calidad seminal. Adicionalmente estimuló el crecimiento y desarrollo de los órganos sexuales primarios, secundarios y accesorios (Narasimhaiah et al., 2018; Rodríguez-gaxiola et al., 2016). El pH del plasma seminal se incrementó cuando hubo disminución de la concentración de Zn en dieta, esto fue reportado previamente (Marzec-Wróblewska et al., 2012), lo que sugiere que la composición química del plasma seminal podría alterarse con bajas

concentraciones de Zn circulante. Por lo tanto, el aumento del pH en condiciones de bajas concentraciones de Zn puede tener el potencial de provocar cambios en el equilibrio iónico en el plasma seminal, esto podría afectar a la integridad de la membrana y reserva de nutrientes (Abdulrashid y Juniper, 2016).

En características de la motilidad no hubo diferencias ($P>0.05$) con respecto a las concentraciones estudiadas de Zn orgánico en la dieta base. La información es escasa en conejos sementales usando altas concentraciones de Zn. Mientras tanto, en cabras sementales al emplear la inclusión de 100 mg zinc inorgánico kg^{-1} de dieta, mostró un incremento de la motilidad seminal (Rahman et al., 2014). De la misma forma, en bovinos con fuentes orgánicas mejoró la motilidad seminal (Kumar et al., 2006). Por otro lado, al usar concentraciones de 100 o 200 ppm de zinc puro han mostrado reducción de la movilidad espermática en peces de carpa (Chyb et al., 2000). Mientras en cerdos al usar concentraciones altas de Zn, presentaron una degeneración testicular, pérdida de motilidad espermática y daño al ADN (Li et al., 2017; García-Contreras et al., 2011). En conejos del grupo control (dieta basal), la razón porque no presento valores bajos de motilidad podría ser la reutilización del elemento por medio de la ingesta de Zn vía heces blandas (Leiber et al., 2008; Li et al., 2020; Xiao et al., 2015), la cual aporta vitaminas del complejo B, proteína y minerales (De Blas y Wiseman, 2010), aunque se desconoce la proporción de éstos últimos, con respecto a lo ingerido. Esto sugiere que, el organismo hace uso eficiente del elemento limitante y tiene la capacidad de retenerlo (Park et al., 2004) mediante diversos mecanismos reguladores que controlan la absorción y excreción del Zn (Brugger y Windisch 2017), logrando minimizar el impacto drástico de una deficiencia severa del elemento (García-Contreras et al., 2011).

En características de cinemática de movimiento del espermatozoide, se encontró valores altos de VCL y valores bajos de LIN, que son reconocidos como características de hiperactivación espermática, un componente de capacitación el cual se alcanza en el tracto genital de la hembra (Jean-michel et al., 2006), coincidiendo con lo reportado previamente (Bolanca et al., 2016; Rodríguez-Capcha, 2016; Narasimhaiah et al., 2018). En contraste, existió la tendencia negativa al emplear la concentración de 200 mg Zn kg^{-1} de dieta, sobre los parámetros de cinemática de los espermatozoides, esto fue reportado previamente en semen de conejo adicionando zinc al diluyente en condiciones *in vitro*, evidenciando que altas concentraciones de zinc afecta la cinemática de

movimiento (Halo et al., 2018). Con ello, se afectan las características relacionadas con la habilidad fertilizante (Jean-michel et al., 2006). Lo que sugiere que el Zn extracelular en concentraciones altas afecta la motilidad espermática, sin embargo los efectos positivos o negativos dependen de la especie y el nivel de concentración del elemento (Yamaguchi et al., 2009).

La morfología del espermatozoide se correlaciona más estrechamente con la tasa de fertilidad que con la concentración y la motilidad (Baiomy et al., 2018). La calidad espermática y porcentaje de espermatozoides con acrosomas intactos son factores clave para obtener el mayor índice predictivo del éxito en fertilización in vitro (Fallas-López, 2010). En el presente estudio, el porcentaje de espermatozoides normales fue afectado negativamente ($P=0.02$) con la inclusión de $200 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ de dieta. Contrario a lo que se suponía, altas concentraciones de Zn orgánico tiene un detrimento en la cinemática de movimiento y calidad del esperma en conejos sementales (Halo et al., 2018). Este efecto podría alterar la espermatogénesis y/o producir espermatozoides anormales (Egwurugwu et al., 2012). Sin embargo, las relaciones entre zinc y la producción espermática son aún poco conocidas en esta especie, por ello, es necesario continuar con más investigación para determinar el nivel óptimo y obtener la mejor respuesta en la producción y calidad seminal en sementales. Adicionalmente se debería incluir estudios de interacción con otros elementos, mecanismos enzimáticos, no enzimáticos y proteínas involucradas en la producción seminal (Marzec-Wróblewska et al., 2012; Tvrdá et al., 2013).

2.7. CONCLUSIÓN

Las concentraciones altas de Zn en conejos sementales usando una fuente orgánica, no mostraron una respuesta significativa en la producción espermática. La inclusión de $150 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ de dieta y control, evidenciaron la mejor cinemática de movimiento y calidad espermática respecto a $200 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ de dieta, lo cual impactará en las características de la prolificidad y fecundidad de la hembra.

2.8. LITERATURA CITADA

- Abdulrashid, M, and D T Juniper. 2016. "Effect of dietary protein, selenium and temperature humidity index on reproductive traits of male rabbits in a tropical environment." *J. Anim. Prod. Res* 28 (2): 61–65.
- Amen, M Hassan M., and Sarmad Sulaiman Muhammad. 2016. "Effect of zinc supplementation on some physiological and growth traits in local male rabbit." *World's Veterinary Journal* 6 (3): 151–55.
- Anwar, M. I., M. M. Awais, M. Akhtar, M. T. Navid, and F. Muhammad. 2019. "Nutritional and immunological effects of nano-particles in commercial poultry birds." *World's Poultry Science Journal* 75 (2): 261–71. <https://doi.org/10.1017/S0043933919000199>.
- Arangasamy, A., M. Venkata Krishnaiah, N. Manohar, S. Selvaraju, P. R. Guvvala, N. M. Soren, I. J. Reddy, K. S. Roy, and J. P. Ravindra. 2018. "Advancement of puberty and enhancement of seminal characteristics by supplementation of trace minerals to bucks." *Theriogenology* 110: 182–91. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.01.008>.
- Baiomy, A.A., H. H. M. Hassanien, and K. R. S. Emam. 2018. "Effect of zinc oxide levels supplementation on semen characteristics and fertility rate of bucks rabbits under subtropical conditions." *Egyptian Journal of Rabbit Science* 28 (2): 395–406.
- Bao, Y. M., and M. Choct. 2009. "Trace mineral nutrition for broiler chickens and prospects of application of organically complexed trace minerals: a review." *Animal Production Science* 49 (4): 269–82. <https://doi.org/10.1071/EA08204>.
- Blas, C. De, and G. G. Mateos. 2010. *Nutrition of the Rabbit*, 2nd Edition. CAB International. Wallingford: CABI.
- Bojar, Iwona, Mariusz Witczak, and Artur Wdowiak. 2013. "Biological and environmental conditionings for a sperm dna fragmentation." *Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM* 20 (4): 865–68. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24364470>.
- Bolanca, Ivan, Jasmina Obhodas, Dejan Ljiljak, Lidija Matjacic, and Krunoslav Kuna. 2016. "Synergetic effects of k, ca, cu and zn in human semen in relation to parameters indicative of spontaneous hyperactivation of spermatozoa." *PLoS ONE* 11 (3): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152445>.
- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch. 2015. "Environmental responsibilities of livestock feeding using trace mineral supplements." *Animal Nutrition* 1 (3): 113–18. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.08.005>.

- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch. 2017. "Strategies and challenges to increase the precision in feeding zinc to monogastric livestock." *Animal Nutrition* 3 (2): 103–8. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.03.002>.
- Brugger, Daniel, and Wilhelm M. Windisch. 2019. "Zn metabolism of monogastric species and consequences for the definition of feeding requirements and the estimation of feed zn bioavailability." *Journal of Zhejiang University- Science B* 20 (8): 617–27. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1900024>.
- Cheah, Yunsang, and Wanxi Yang. 2011. "Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis." *Advances in Bioscience and Biotechnology* 02 (04): 182–97. <https://doi.org/10.4236/abb.2011.24029>.
- Chen, Yu, Jing Yang, Ying Wang, Mei Yang, and Mengyao Guo. 2019. "Zinc deficiency promotes testicular cell apoptosis in mice." *Biological Trace Element Research* 195 (1): 142–49. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01821-4>.
- Chu, Qingqing, Zhi Hong Chi, Xiuli Zhang, Dan Liang, Xuemei Wang, Yue Zhao, Li Zhang, and Ping Zhang. 2016. "A potential role for zinc transporter 7 in testosterone synthesis in mouse leydig tumor cells." *International Journal of Molecular Medicine* 37 (6): 1619–26. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2576>.
- Chyb, J., T. Mikolajczyk, P. Szczerbik, and P. Epler. 2000. "The influence of zinc on sperm motility of common carp - a computer assisted studies." *Archiwum Rybactwa Polskiego* 08 (1): 4–14.
- Cui, H., T. Zhang, H Nie, Z. Wang, X. Zhang, B Shi, X. Xing, F Yang, and X. Gao. 2017. "Effects of different sources and levels of zinc on growth performance, nutrient digestibility, and fur quality of growing-furring male mink (*Mustela Vison*)." *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1081-4>.
- Egwurugwu, J. N., C. U. Ifedi, R. C. Uchefuna, E. N. Ezeokafor, and E. A. Alagwu. 2012. "Effects of zinc on male sex hormones and semen quality in rats." *Nigerian Journal of Physiological Sciences* 28 (1): 17–22.
- El-Tarabany, Mahmoud Salah, Khairy El-bayomi, and Tamer Abdelhamid. 2015. "Semen characteristics of purebred and crossbred male rabbits." *PLoS ONE* 10 (5): 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128435>.
- Fallas-López, M. 2010. "Suplemento con germinados de trigo como bioestimulo reproductivo en conejos machos." Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados, 43.
- Foresta, Carlo, Andrea Garolla, Ilaria Cosci, Massimo Menegazzo, Marco Ferigo, Valentina Gandin, Luca De Toni, and Toni. Luca De. 2014. "Role of zinc trafficking in male fertility:

from germ to sperm.” *Human Reproduction* 29 (6): 1134–45.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deu075>.

García-Contreras, Adelfa, Yasmin De Loera, Carlos García-Artiga, Antonio Palomo, Jesús A. Guevara, José Herrera-Haro, Carmen López-Fernández, Steve Johnston, and Jaime Gosálvez. 2011. “Elevated dietary intake of zn-methionate is associated with increased sperm dna fragmentation in the boar.” *Reproductive Toxicology* 31 (4): 570–73.
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.12.003>.

Ghorbani, Ahad, Mohammad Mehdi Moeini, Manochehr Souri, and Hadi Hajarjan. 2018. “Influences of dietary selenium, zinc and their combination on semen characteristics and testosterone concentration in mature rams during breeding season.” *Journal of Applied Animal Research* 46 (1): 813–19. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1406858>.

Gresakova, Lubomira, Katarina Venglovska, and Klaudia Cobanova. 2018. “Nutrient digestibility in lambs supplemented with different dietary manganese sources.” *Livestock Science*, 1–26.
<https://doi.org/10.1017/S0043933917000769>.

Halo, Marko, Filip Tirpák, Adam Dano, Katarína Zbynovská, Anton Kováčik, Lubomír Ondruška, Agnieszka Gren, Norbert Lukác, and Peter Massányi. 2018. “Zinc affects rabbit spermatozoa in vitro: effects on motility and viability.” *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 8 (3): 901–4. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2018-19.8.3.901-904>.

Hassan, Fardos A.M., Rania Mahmoud, and Iman E. El-Araby. 2017. “Growth performance, serum biochemical, economic evaluation and il6 gene expression in growing rabbits fed diets supplemented with zinc nanoparticles.” *Zagazig Veterinary Journal* 45 (3): 238–49.
<https://doi.org/10.5281/ZENODO.999562>.

Jean-michel, Brun, Michéle Theau-Clément, Jean Esparbie, Jacky Falieres, Georges Saleil, and Catherine Larzul. 2006. “Semen production in two rabbit lines divergently selected for 63-d body weight.” *Theriogenology* 66: 2165–72.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.07.004>.

Kelleher, Shannon L, Nicholas H McCormick, Vanessa Velasquez, and Veronica Lopez. 2011. “Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate, and mammary gland.” *International Review Journal*, 101–11. <https://doi.org/10.3945/an.110.000232>.Figure.

Kerns, Karl, Michal Zigo, and Peter Sutovsky. 2018. “Zinc: A necessary ion for mammalian sperm fertilization competency.” *International Journal of Molecular Sciences* 19 (12).
<https://doi.org/10.3390/ijms19124097>.

Khoobbakht, Zeinab, Mehrdad Mohammadi, Mohammad Roostaei Ali Mehr, Fahimeh Mohammadghasemi, and Mohammad Mehdi Sohani. 2018. “Comparative effects of zinc oxide, zinc oxide nanoparticle and zinc-methionine on hatchability and reproductive

- variables in male japanese quail.” *Animal Reproduction Science* 192 (October 2017): 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.02.017>.
- Kumar, Ashok, Mohd Arif Scholar, SS Kadam, and Mohd Arif. 2018. “Zinc mediated agronomic bio-fortification of wheat and rice for sustaining food and health security: A Review.” *International Journal of Chemical Studies IJCS* 6 (61): 471–75.
- Kumar, N., R. Verma, L. Singh, Vi. Varshney, and R. Dass. 2006. “Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (*Bos indicus* × *Bos taurus*) bulls.” *Reprod. Nutr. Dev* 46 (6): 663–75. <https://doi.org/10.1051/rnd:2006041>.
- Kumar, Vinod. 2015. “Effect of minerals on dairy animal reproduction - a review.” *International Journal of Livestock Research* 5 (6): 1. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20150627091925>.
- Leiber, Florian, Janina S. Meier, Bettina Burger, Hans Rudolf Wettstein, Michael Kreuzer, Jean Michel Hatt, and Marcus Clauss. 2008. “Significance of coprophagy for the fatty acid profile in body tissues of rabbits fed different diets.” *Lipids* 43 (9): 853–65. <https://doi.org/10.1007/s11745-008-3210-5>.
- Li, Ruiting, Xiuling Li, Tao Huang, Yadong Wang, Mingming Xue, Shuaijie Sun, Duo Yan, Guohua Song, Guirong Sun, and Ming Li. 2020. “Influence of cecotrophy on fat metabolism mediated by caecal microorganisms in new zealand white rabbits.” *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 104 (2): 749–57. <https://doi.org/10.1111/jpn.13309>.
- Li, Zhaojian, Yansen Li, Xin Zhou, Yun Cao, and Chunmei Li. 2017. “Preventive effects of supplemental dietary zinc on heat-induced damage in the epididymis of boars.” *Journal of Thermal Biology* 64: 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.01.002>.
- Marzec-Wróblewska, U., P. Kaminski, and P. Lakota. 2012. “Influence of chemical elements on mammalian spermatozoa.” *Folia Biologica (Czech Republic)* 58 (1): 7–15.
- Mateos, G. G., P. G. Rebollar, and C. de Blas. 2010. “Minerals, vitamins and additives.” in *nutrition of the rabbit*, 119–50. Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845936693.0119>.
- Meshreky, S. Z., S. M. Allam, M.A.F. El-Manilawi, and H F Amin. 2015. “Effect of dietary supplemental zinc source and level on growth performance, digestibility coefficients and immune response of New Zealand White rabbits.” *Egyptian J. Nutrition and Feeds* 18 (2): 383–90.
- Milostić-Srb, Andrea, Aleksandar Včev, Marijan Tandara, Svjetlana Marić, Vesna Kuić-Vadlja, Nika Srb, and Dubravka Holik. 2020. “Importance of zinc concentration in seminal fluid of men diagnosed with infertility.” *Acta Clinica Croatica* 59 (1): 154–60. <https://doi.org/10.20471/acc.2020.59.01.19>.

- Murarka, S, V Mishra, P Joshi, and Kumar Sunil. 2015. "Role of zinc in reproductive biology - an overview." *Austin J Reprod Med Infertil.* 2 (2): 1009.
- Narasimhaiah, M., A. Arunachalam, S. Sellappan, V. K. Mayasula, P. R. Guvvala, S. K. Ghosh, V. Chandra, J. Ghosh, and H. Kumar. 2018. "Organic zinc and copper supplementation on antioxidant protective mechanism and their correlation with sperm functional characteristics in goats." *Reproduction in Domestic Animals* 53 (3): 644–54. <https://doi.org/10.1111/rda.13154>.
- Oliveira, C. E. A., C. A. Badú, W. M. Ferreira, E.B. Kamwa, and A. M. Q. Lana. 2004. "Effects of dietary zinc supplementation on spermatic characteristics of rabbit breeders." *Congress, 8th World Rabbit Congress*, 315–21.
- Park, S Y, S G Birkhold, L F Kubena, D J Nisbet, and S C Ricke. 2004. "Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction." *Biological Trace Element Research* 101: 147–63.
- Prasad, Ananda S., and Bin Bao. 2019. "Molecular mechanisms of zinc as a pro-antioxidant mediator: clinical therapeutic implications." *Antioxidants* 8 (6). <https://doi.org/10.3390/antiox8060164>.
- Rahman, H. U., M. S. Qureshi, and R. U. Khan. 2014. "Influence of dietary zinc on semen traits and seminal plasma antioxidant enzymes and trace minerals of beetal bucks." *Reproduction in Domestic Animals* 49 (6): 1004–7. <https://doi.org/10.1111/rda.12422>.
- Rodríguez-De Lara, R., M. López-Fallas, R. Rangel-Santos, and V. Mariscal-Aguayo. 2003. "Influence of short-term relocation and male exposure on sexual receptivity and reproduction in artificially inseminated lactating doe rabbits." *Animal Reproduction Science* 78 (1–2): 111–21. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00064-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00064-2).
- Rodríguez-gaxiola, M., J Romo-valdez, B Ortiz-lópez, R Barajas-cruz, S Gaxiola-camacho, and J. Romo-rubio. 2016. "Respuesta al consumo adicional de zinc orgánico en la calidad seminal de ovinos de pelo." *Abanico Veterinario* 6 (3): 24–34. <https://doi.org/10.21929/abavet2016.63.2>.
- Rodríguez Capcha, Misael. 2016. "Efecto de la selección por ganancia media diaria durante el engorde sobre la calidad espermática en conejo." *Universidad Politecnica de Valencia*.
- Roy, B., R.P.S. Baghel, T.K. Mohanty, and Goutam Mondal. 2013. "Zinc and male reproduction in domestic animals: a review." *Indian J. Anim. Nutr.* 4 (30): 339–50.
- Saleh, Ahmed A., Mohamed M. Ragab, Enas A. M. Ahmed, Alaeldein M. Abudabos, and Tarek A. Ebeid. 2017. "Effect of dietary zinc-methionine supplementation on growth performance, nutrient utilization, antioxidative properties and immune response in broiler chickens under

- high ambient temperature.” *Journal of Applied Animal Research* 46 (1): 820–27. <https://doi.org/10.1080/09712119.2017.1407768>.
- SAS Institute. 2013. “SAS, Institute V. 9.4 Software.” *Procedure Guide: Statistical Procedures*, 2nd Edition, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Star, L., J. D. van der Klis, C. Rapp, and T. L. Ward. 2012. “Bioavailability of organic and inorganic zinc sources in male broilers.” *Poultry Science* 91 (12): 3115–20. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02314>.
- Sutovsky, Peter, Karl Kerns, Michal Zigo, and Dalen Zuidema. 2019. “Boar semen improvement through sperm capacitation management, with emphasis on zinc ion homeostasis.” *Theriogenology* 137: 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.037>.
- Tvrda, Eva, Peter Sikeli, Jana Lukáčová, Peter Massányi, Norbert Lukáč, and Eva Tvrda. 2013. “Mineral nutrients and male fertility.” *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 3 (1): 1–14.
- Uriu-Adams, Janet Y, and Carl L Keen. 2010. “Zinc and reproduction: effects of zinc deficiency on prenatal and early postnatal development.” *Birth Defects Res (Part B)* 89: 313–25. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20264>.
- Xiao, Jin, Barbara U. Metzler-Zebeli, and Qendrim Zebeli. 2015. “Gut function-enhancing properties and metabolic effects of dietary indigestible sugars in rodents and rabbits.” *Nutrients* 7 (10): 8348–65. <https://doi.org/10.3390/nu7105397>.
- Xu, X., L. Liu, S. F Long, X. S. Piao, T. L. Ward, and F. Ji. 2017. “Effects of chromium methionine supplementation with different sources of zinc on growth performance, carcass traits, meat quality, serum metabolites, endocrine parameters, and the antioxidant status in growing-finishing pigs.” *Biol Trace Elem Res* 179: 70–78. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-0935-0>.
- Yamaguchi, S., C. Miura, K. Kikuchi, F. T. Celino, T. Agusa, S. Tanabe, and T. Miura. 2009. “Zinc is an essential trace element for spermatogenesis.” *PNAS* 106 (26): 10859–64. <http://www.pnas.org/content/pnas/106/26/10859.full.pdf>.
- Yan, J. Y., G. W. Zhang, C. Zhang, L. Tang, and S. Y. Kuang. 2017. “Effect of dietary organic zinc sources on growth performance, incidence of diarrhoea, serum and tissue zinc concentrations, and intestinal morphology in growing rabbits.” *World Rabbit Science* 25 (1): 43–49. <https://doi.org/10.4995/wrs.2017.5770>.
- Yenice, Engin, Cengizhan M??zrak, Meltem Gltekin, Zafer Atik, and Muhammet Tunca. 2015. “Effects of organic and inorganic forms of manganese, zinc, copper, and chromium on bioavailability of these minerals and calcium in late-phase laying hens.” *Biological Trace Element Research* 167 (2): 300–307. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0313-8>.

Zakaria, HA, M Jalal, HH AL-Titi, and A Souad. 2017. “Effect of sources and levels of dietary zinc on the performance, carcass traits and blood parameters of broilers.” *Revista Brasileira de Ciência Avícola* 19 (3): 519–26. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0415>.

CONCLUSIONES GENERALES

La inclusión de 25 y 75 mg Zn orgánico kg⁻¹ en la etapa de engorda indujo una mejor conversión alimenticia sin afectar a las características de la calidad de carne. Adicionalmente, la mayor deposición del elemento Zn en *Longissimus dorsi* se presentó al usar la concentración de 25 mg Zn kg⁻¹ en dieta, lo cual es importante desde el punto de vista de aporte nutricional para el consumo humano.

La inclusión de 200 mg Zn orgánico kg⁻¹ en dieta de sementales no tuvo un efecto positivo sobre la producción, cinemática de movimiento y calidad seminal. Los resultados encontrados sugieren que los sementales requieren una concentración de 150 mg Zn kg⁻¹ de dieta para desarrollar las funciones reproductivas de manera adecuada.