

FERTILIDAD, DESARROLLO EMBRIONARIO Y PROLIFICIDAD DE CONEJAS NULÍPARAS ALIMENTADAS CON PIENSOS ENRIQUECIDOS EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS n-3

Pascual, J.I.¹, González-Bulnes A.², Arias-Álvarez M.³, García-García R.M.⁴, Masdeu M.⁴, Formoso-Lafferty N.⁴, Rodríguez M.⁴, Ciacci A.², Lorenzo P.L.⁴, Rebollar, P.G.¹

¹Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, UPM. ²Dpto. de Reproducción Animal. INIA. Avda. Puerta de Hierro s/n. ³Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, UCM. ⁴Departamento de Fisiología (Fisiología Animal), Facultad de Veterinaria, UCM. Ciudad Universitaria s/n. 28040-Madrid.

pilar.grebollar@upm.es

RESUMEN

Un total de 105 conejas nulíparas se alimentaron *ad libitum* un mes antes y durante su primera gestación con dos piensos isofibrosos, isoenergéticos e isoproteicos suplementados con dos fuentes de grasa diferentes: 0,75% de manteca para la dieta control (grupo C; n=53) ó 1,5% de un suplemento (Optomega-50; Optivite International Ltd., España) que contenía un 50% de extracto etéreo y 38% de ácidos grasos poli-insaturados (AG n-3) para la dieta experimental (grupo P; n=52). A los 4,5 meses de edad se determinó la fertilidad después de ser inseminadas artificialmente y tratadas con 20 µg de Gonadorelina (Inducel-GnRH, Ovejero) para inducirles la ovulación. Al parto se determinó la duración de la gestación, el número y peso de los gazapos nacidos vivos y muertos. Se escogieron 16 conejas al azar, 8 de cada grupo, y se realizaron ecografías a los 8, 15 y 22 días de gestación en las que se determinó las dimensiones del embrión y de los anejos fetales. La suplementación con AG n-3 no afectó a los resultados productivos determinados ya que se trata de parámetros que en nulíparas son difíciles de mejorar y suelen ser altos. Tampoco se observaron diferencias en las determinaciones ecográficas pero se han podido definir medidas fisiológicas de los fetos y anejos placentarios de gran utilidad para futuros estudios en esta especie.

SUMMARY

One hundred and five nulliparous rabbit does were fed *ad libitum* one month before and during pregnancy with two isofibrous, isoenergetic and isoproteic diets supplemented with two different fat sources: 0.75% lard for control diet (C group: n=53) or 1.5% of a supplement (Optomega-50; Optivite International Ltd., España) containing a 50% of ether extract and 38% of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for experimental diet (group P n-3; n=52). Fertility after artificial insemination and induction of ovulation with 20 µg of Gonadorelina (Inducel-GnRH, Ovejero) at 4.5 months of age was assessed. At parturition, pregnancy length and prolificacy (number and weight of born alive and number of stillborn) were observed. A total of 8 pregnant does from each experimental group were chosen at random to study embryo and placenta dimensions by means of ultrasonography at 8, 15 and 22 days of pregnancy. PUFA n-3 supplementation did not affect any productive results due the success on reproductive features of nulliparous does which are difficult to improve. Neither, any differences in ultrasonographic measurements were obtained; nevertheless we have defined useful physiological parameters of rabbit embryo and placenta to future studies in this specie.

KEYWORDS: productivity, embryo, PUFA n-3, rabbit.

INTRODUCCIÓN

Descubrir nuevas vías para mejorar la reproducción en las explotaciones cunícolas y evolucionar en la composición de los piensos son claves que toda empresa competitiva desea para poder producir un mayor número y peso de gazapos al destete y posterior cebo, permitiendo a su vez mayor fertilidad en las madres y ciclos productivos más cortos. Entre otras estrategias, se ha descrito que el empleo de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (AG) podría influir en los parámetros reproductivos de las hembras y machos en producción. En otras especies, el ácido linolénico aumenta el número de oocitos que

llegan al estadio de Metafase II cuando se utiliza en medios de maduración *in vitro* e incrementa su viabilidad (vacuno: Marei et al., 2009; ovino: Hughes et al., 2010). Estos nutrientes son necesarios en numerosos procesos fisiológicos como el crecimiento, la reproducción, la visión y el desarrollo cerebral (Gurr et al., 2002). En recientes estudios hemos comprobado que las concentraciones de progesterona de hembras alimentadas con este tipo de dietas son ligeramente mayores, por lo que se podría favorecer la tasa de implantación embrionaria y la prolificidad (Pascual et al., 2013). No obstante, no se conocen sus efectos en este sentido y en esta especie. Por tanto, el objetivo de este trabajo es conocer si dietas enriquecidas con AG n-3 podrían afectar a los resultados de fertilidad, prolificidad y desarrollo embrionario en conejas nulíparas.

MATERIAL Y METODOS

Un total de 105 conejas (*Oryctolagus cuniculus*) híbridas (Neozelandés blanco x Californiano), nulíparas de 3,5 meses de edad, alojadas en la granja experimental de la E.T.S.I. Agrónomos de la UPM (20-25°C, 16HL:8HO) se distribuyeron al azar en dos grupos, suministrándoles *ad libitum* dos piensos con igual composición en ingredientes y valor nutritivo (2400 Kcal ED/kg, 37% FND y 16% PB) pero suplementados con diferentes fuentes de grasa. En el pienso del grupo P (n=53) se incluyó un 1,5% de un suplemento (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España), con un 50% de extracto etéreo, concentrado en AG n-3 [13% DHA (C22:6 n-3), 3% DAPA (C22:5 n-3), 7% EPA (C20:5 n-3), 7% C18:4 n-3 y 2% Linolénico (C18:3 n-3)] a partir de aceite refinado de salmón, y en el grupo C (n=52) se utilizó un 0,75% de manteca. Tras un mes consumiendo estas dietas, se las inseminó con un pool de semen diluido (Cudil, Lab. Ovejero) que contenía más de 20 millones de espermatozoides por dosis seminal (0,5 ml), y la ovulación se indujo con una inyección intramuscular de 20µg de Gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero). El día del parto se determinó la duración de la gestación, el número y peso de los gazapos nacidos vivos (nv) y los nacidos muertos (nm).

Además, se escogieron al azar 8 conejas gestantes por grupo experimental en las que a los 8, 15 y 22 días de gestación se realizaron ecografías (Sonosite S Series) con una sonda lineal multifrecuencia de 5-8 MHz. Sin necesidad de anestesia, tras rasurar el pelo del abdomen y con el animal sujeto en decúbito supino y relajado, se procedió a desplazar la sonda impregnada en gel a ambos lados de la línea media. En primer lugar, se intentó localizar el ovario para determinar la tasa de ovulación a través del recuento de cuerpos lúteos. A los 8 días de gestación se determinó en cada cuerno uterino el número y tamaño de las vesículas embrionarias (VE), la longitud y ancho del embrión y el grosor de la placenta. A los 15 días se midió, en al menos 2 embriones de cada cuerno, la longitud total del feto (CRL), el diámetro biparietal (DBP) y longitud occipito-nasal (LON), el diámetro torácico (DTC) y el grosor de la placenta. El día 22 se determinó la LON, el DBP y el DTC de 2 fetos de cada cuerno. Cuando estas conejas parieron, se pesó cada gazapo vivo de forma individual y se determinaron la LON, el DBP, el DTC y la CRL igualmente.

Para analizar estadísticamente los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS/STAT 1999-2001). Se realizaron análisis de varianza para determinar el efecto de las dietas sobre la fertilidad (proc catmod) y sobre la duración de la gestación, la prolificidad (nv, nm) y el peso de las camadas, el peso individual y las dimensiones de los gazapos al nacimiento (proc glm). También se estudió el efecto de las dietas, del cuerno uterino (izquierdo y derecho) y de su interacción sobre todos los parámetros determinados mediante ecografía a los 8, 15 y 22 días de gestación con un modelo de medidas repetidas (proc mixed).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto la fertilidad media (84,6 y 83,0%) como la duración de la gestación (30,8±0,1 y 30,9±0,1 días), el número de nv (10,1±0,4 y 10,0±0,4), de nm (0,1±0,1 y 0,3±0,1), el peso de las camadas (488,3±16,4 y 496,1±17,0 g) y el peso individual de los gazapos (49,08±1,5 y 50,42±1,2 g) al nacimiento fueron similares entre los grupos C y P, respectivamente. Dado que en condiciones normales la fertilidad de las conejas nulíparas es especialmente alta sin necesidad de aplicar ningún tratamiento de sincronización de celo (Rommers et al., 2004),

consideramos normal que no se haya detectado mejoría en este parámetro, ni en los relacionados con la respuesta ovárica. En este momento de la vida productiva de la hembra, un escaso desarrollo corporal hubiera podido afectar a la respuesta ovárica y por ende a la prolificidad. Tal y como hemos descrito en estudios paralelos a éste, el consumo, la digestibilidad y el crecimiento de los animales fue similar con ambos piensos (Pascual et al., 2013). Además, el peso medio de las hembras era el indicado para ser inseminadas por primera vez y presentaban un desarrollo corporal adecuado.

En el estudio ecográfico, se localizó el ovario y se determinaron sus dimensiones (Figura 1) pero no se consiguió visualizar claramente el número de cuerpos lúteos o de folículos ováricos en su superficie con la sonda empleada. A los 8 días de gestación se contó un mínimo de 3 y un máximo de 20 VE por hembra en los que se pudo determinar el diámetro (Figura 2a), la longitud y anchura del embrión (Figura 2b y 2c) y el grosor de la placenta (Figura 2d). En ocasiones hubo dificultad en el recuento de las VE, debido al elevado número de ellas, y no se pudo correlacionar este recuento con el número de gazapos nacidos, tal y como previamente describen Chavatte-Palmer et al. (2008). Sí que pudimos determinar que el diámetro medio de las VE medidas era menor en el cuerno izquierdo que en el derecho ($P < 0,03$) aunque no hubo diferencias significativas en el número de VE contadas en el cuerno izquierdo con respecto al cuerno derecho en ambos grupos experimentales. A los 15 días todavía era posible determinar la longitud total del feto, el latido cardiaco y el resto de dimensiones corporales mencionadas (Figura 3a). A los 22 días, el gran tamaño de los fetos permitió determinar las dimensiones parciales de los mismos, apreciándose columna vertebral, costillas, vísceras e incluso las extremidades perfectamente formadas (Figura 3b). Todas las hembras sometidas a ecografía parieron sin ninguna incidencia.

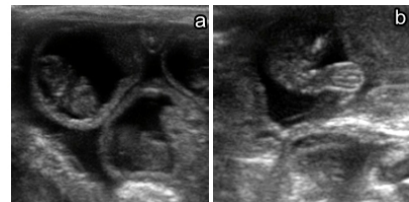
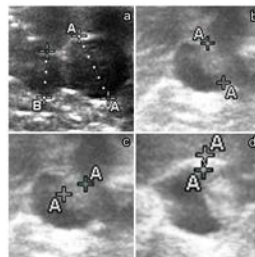
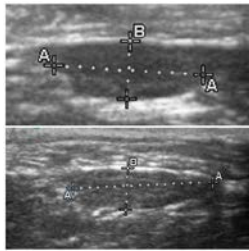


Figura 1. Ovarios de coneja en día 8 de gestación. Las líneas y letras muestran la determinación del largo y ancho del órgano.

Figura 2. a) Vesículas embrionarias, b) longitud, c) ancho y d) grosor de la placenta a los 8 días de gestación.

Figura 3. a) Embriones y placentas de 15 días, b) extremidad de un feto de 22 días de gestación

No se observaron diferencias significativas en el número de VE, dimensiones de los embriones y fetos ni en el grosor de las placentas entre los dos grupos experimentales en ninguna de las fases de la gestación estudiadas (Tabla 1). De acuerdo con nuestros resultados, Smit et al. (2012) también mostraron que dietas con AG n-3 suministradas en gestación a cerdas primíparas no tienen efectos globales sobre sus rendimientos reproductivos, índices de ovulación y supervivencia de los embriones, siendo estos resultados similares a los que hemos obtenido en conejas. Por lo tanto como conclusión podemos afirmar que los piensos enriquecidos con AG n-3 no influyen significativamente en los parámetros reproductivos de las conejas en su primera gestación, de modo que no se observan mejoras en los resultados de fertilidad, prolificidad y desarrollo embrionario y fetal. Mediante el seguimiento ecográfico realizado hemos definido medidas fisiológicas de un embrión de conejo que podrán servir para estudios posteriores en esta especie.

Tabla 1. Parámetros de desarrollo fetal en conejas alimentadas con piensos enriquecidos en AG n-3 (P) y controles (C), en el cuerno derecho (D) e izquierdo (I) determinados mediante ecografía.

	PIENSO			CUERNO		
	C	P	P>f	D	I	P>f
Día 8 (cm)						
Ø VE	1,19±0,05	1,18±0,04	n.s.	1,22±0,03	1,15±0,03	0,03
Emb L	0,84±0,11	0,88±0,14	n.s.	0,82±0,14	0,90±0,07	n.s.
Emb A	0,57±0,12	0,40±0,10	n.s.	0,47±0,08	0,50±0,08	n.s.
Plac	0,33±0,10	0,20±0,10	n.s.	0,27±0,07	0,27±0,07	n.s.
Día 15 (cm)						
CRL	1,46±0,07	1,50±0,10	n.s.	1,39±0,10	1,57±0,06	n.s.
LON	0,82±0,07	0,82±0,07	n.s.	0,77±0,08	0,87±0,04	n.s.
DBP	0,57±0,01	0,59±0,01	n.s.	0,59±0,01	0,58±0,01	n.s.
DTC	0,66±0,01	0,66±0,01	n.s.	0,66±0,01	0,66±0,01	n.s.
Plac	0,45±0,01	0,42±0,12	n.s.	0,43±0,01	0,44±0,01	n.s.
Día 22 (cm)						
LON	1,86±0,01	1,88±0,01	n.s.	1,89±0,16	1,85±0,02	n.s.
DBP	1,12±0,01	1,12±0,01	n.s.	1,12±0,01	1,12±0,01	n.s.
DTC	1,55±0,02	1,49±0,02	n.s.	1,52±0,02	1,53±0,2	n.s.
Nacimiento (cm)						
CRL	7,69±0,23	8,01±0,20	n.s.	-	-	
LON	2,93±0,04	2,94±0,04	n.s.	-	-	
DBP	1,84±0,04	1,86±0,04	n.s.	-	-	
DTC	1,90±0,07	1,96±0,7	n.s.	-	-	

VE: vesícula embrionaria; Emb L: Longitud embrión; Emb A: Anchura embrión; Plac: Placenta; CRL: Longitud total del feto; LON: Longitud occipito-nasal; DBP: Diámetro biparietal; DTC: Diámetro torácico.

Agradecimientos: Agradecemos la ayuda técnica y colaboración de la Ing. Agrícola Beatriz Velasco. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2011 23822.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chavatte-Palmer P., Laigre P., Simonoff E, Chesne P., Challah-Jacques M., Renard J.P. 2008. *Theriogenology* 69: 859–869. •Gurr M.I., Harwood J.L., Frayn K.N. 2002. 5th ed. Oxford, UK:Blackwell Science Ltd. •Hughes J., Kwong WY, Li D., Salter AM, Lea RG., Sinclair KD. 2010. *Reproduction* 141: 105-112. •Marei W.F., Wathes D.C., Fouladi-Nashta A.A. (2009). *Biol. Reprod.* 81: 1064-1072. •Pascual, J.I., Rodríguez M., Millán, P., de la Riba, S., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Lorenzo P.L., Rebollar, P.G. 2013. ITEA Jornadas de Producción animal, 14-15 mayo 2013. Zaragoza. In press. • Rommers, J.M., Meijerhof, R., Noordhuizen, J.P.T.M., Kemp, B., 2004. *Reprod. Nutr. Dev.* 44: 321–332. • SAS/STAT, 1999–2001. SAS 7.SAS Inst.Inc., Cary, NC. •Smit, M.N., Patterson, J.L., Webel, S.K., Spencer, J.D., Cameron, A.C., Dyck, M.K., Dixon, W.T., Foxcroft, G.R. 2012. *Animal*. doi: 10.1017/S1751731112002236.