

### 1.1.- INTRODUCCIÓN

Las explotaciones de producción de carne de conejo se caracterizan en la actualidad por ser de ciclo cerrado, es decir, en una misma explotación se produce la cría y el engorde de los gazapos hasta el momento de su sacrificio; en España a los 60-65 días de edad.

Al igual que en otras producciones ganaderas intensivas, el factor económico de mayor importancia es la alimentación, que supone entre el 60 y el 80% de los costes de producción de un conejo. En el intervalo restante del 20 al 40% hay una componente productiva muy importante, la eficiencia productiva. Las explotaciones con mayor eficacia productiva van a presentar un menor índice de conversión global por dilución de costes fijos.

La eficiencia productiva de una explotación se descompone en varias variables. En primer lugar nos encontramos con la variable reproductiva, definida como productividad (número de gazapos por hembra y año) y ésta se descompone en fertilidad (porcentaje de hembras gestantes sobre el total de inseminadas) y prolificidad (número de crías por parto), por otra parte nos encontramos con la etapa de crecimiento de los gazapos, la cual engloba el porcentaje de supervivencia tanto en la fase de lactancia como en la fase de engorde y la eficiencia en este crecimiento.

A su vez, la prolificidad en sí depende en primer lugar, de la tasa de ovulación; depende también de la tasa de implantación de los embriones y juega un papel muy importante la supervivencia prenatal, tanto es así que las líneas genéticas difieren en tamaño de camada debido principalmente a la diferente supervivencia prenatal (Santacreu et al., 2005).

Han sido numerosos los métodos que se han ido utilizando hasta la actualidad con el fin de incrementar la productividad. Algunos de ellos ya forman parte de la mayoría de las explotaciones; entre ellos se pueden destacar desde los diseños de los alojamientos, la aparición de los manejos por lotes junto a los ritmos productivos de carácter intensivo y semi-intensivo, los métodos de bioestimulación de la receptividad por iluminación, hasta la aplicación de hormonas para el control de la reproducción, etcétera.

Todos estos factores y otros tienen la finalidad de incrementar el margen entre ingresos y costes, el cual depende en más del 80% de la productividad de la explotación.

No obstante, no hay que dejar a un lado las consecuencias producidas por la nutrición en lo que se refiere a la productividad, ya que debido al porcentaje que representa de los costes fijos la convierten en uno de los aspectos con mayor importancia en producción animal. Los efectos de la nutrición a medio plazo se refieren al peso vivo o condición corporal que presentan las hembras en los momentos próximos a la

cubrición como consecuencia de las disponibilidades alimenticias en los días o semanas previos a la misma. Actualmente, parece claro que un reducido nivel de reservas corporales puede ir asociado con una menor actividad sexual.

En pequeños rumiantes sobretodo, han sido muy estudiados los efectos a corto plazo que se basan en el incremento del nivel alimenticio en las semanas, o incluso días, que preceden a la cubrición al objeto de mejorar los parámetros reproductivos; dicha técnica recibe el nombre de flushing, y su efecto se ejerce especialmente sobre la tasa de ovulación y la prolificidad (Ebling y Foster, 1991; Fink et al., 1998; Khireddine et al., 1998).

### **1.2.- FISIOLÓGÍA OVÁRICA DE LA CONEJA**

#### **1.2.1.- Oogénesis y desarrollo folicular**

En la mayoría de los mamíferos, la formación de los gametos femeninos (oogénesis) comienza durante la vida embrionaria y la transformación de las oogonias (células diploides) en oocitos (células haploides) se completa antes del nacimiento (Fair, 2003). En la coneja, la oogénesis se inicia al nacimiento y las oogonias comienzan la meiosis y se transforman en oocitos durante los 10 primeros días de vida (Peters et al., 1965; Hutt et al., 2006). En la tercera semana de edad, el ovario ya presenta folículos primordiales y folículos en desarrollo (Gondos, 1969; Hutt et al., 2006), mientras que los primeros folículos antrales se detectan a partir de la 12<sup>a</sup> semana de vida (Wolgemuth et al., 1984; Hutt et al., 2006). De esta forma, en las primeras semanas después del nacimiento, la coneja ya contará con la dotación de oocitos disponibles para el resto de su vida reproductiva. A partir de aquí, se producen oleadas de crecimiento folicular (foliculogénesis) y regresión (atresia) de manera constante, aunque el núcleo del oocito permanece detenido en el estadio de diplotene de la profase de la primera división meiótica, estadio nuclear que mantendrá hasta pocas horas antes de la ovulación (Sirard, 2001).

Sin embargo, a lo largo de la foliculogénesis, la maquinaria molecular del oocito está activa. El nucleolo presenta una estructura fibrogranular que refleja la actividad sintética del oocito durante su crecimiento (Sutovsky et al., 1993). En este periodo, sintetiza y almacena grandes cantidades de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y proteínas que es a lo que se debe principalmente su aumento de tamaño (Motik et al., 1989). Además, aumenta el número de mitocondrias, se sintetizan los gránulos corticales y se forma la estructura del citoesqueleto, a través del cual se distribuyen los orgánulos en el citoplasma (Ferreira et al., 2009). Debido a que durante la maduración posterior no hay expresión génica en el oocito, todo el material sintetizado y almacenado durante el crecimiento es el que se utilizará para el metabolismo posterior tanto del oocito como del embrión. Luego, estos procesos que ocurren en el oocito son indispensables, no sólo para reiniciar y completar adecuadamente la maduración, sino también para asegurar la formación del cigoto y

el desarrollo embrionario temprano hasta que se produce la activación del genoma embrionario que, en la coneja, tiene lugar en el estadio de 8 células (Telford et al., 1990). A partir de ahí el embrión puede sintetizar nuevas proteínas para mantener su propio desarrollo (Ferreira et al., 2009).

Durante la foliculogénesis se pueden definir folículos en cinco estadios morfológicos, que a su vez, se pueden agrupar en relación al momento en el que se forma el antro folicular en: folículos preantrales (primordiales, primarios y secundarios) y antrales (terciarios y preovulatorios):

**- Folículo primordial.** El oocito se encuentra rodeado de una capa de células planas conectadas entre sí y al oocito mediante las uniones “gap”, las cuales permiten el intercambio de pequeñas moléculas, señales y nutrientes (Kidder y Mhawi, 2002; Kennedy et al., 2003). El diámetro del folículo y del oocito en este estadio en la coneja está en torno a 30-40  $\mu\text{m}$  (Pincus y Enzmann, 1935; Hutt et al., 2006).

**- Folículo primario.** El folículo tiene un diámetro de unos 100-120  $\mu\text{m}$  (Pincus y Enzmann, 1935; Hutt et al., 2006). Las células foliculares planas que rodean al oocito de la coneja experimenta un gran crecimiento llegando a medir alrededor de 60  $\mu\text{m}$ .

**- Folículo secundario o preantral.** El folículo mide unos 200  $\mu\text{m}$  de diámetro medio (Pincus y Enzmann, 1935). Consta de un oocito que alcanza casi su tamaño máximo (80-104  $\mu\text{m}$ ), con dos o más capas de la granulosa alrededor que se multiplican rápidamente; comienzan a desarrollarse las células de la teca y su vascularización (Kranzfelder et al., 1984; Macchiarelli et al., 1992).

**- Folículo terciario o antral.** Estos folículos en la coneja tiene un diámetro superior a 200-250  $\mu\text{m}$  según distintos autores (Fleming et al., 1984; Kranzfelder et al., 1984; Jelinkova et al., 1994; Hutt et al., 2006). Aparecen espacios ocupados por líquido folicular, producidos por el metabolismo de las células foliculares, los cuales van formando una cavidad llamada antro folicular. El oocito crece hasta unos 133-135  $\mu\text{m}$  (Jelinkova et al., 1994) y presenta de seis a nueve capas de la granulosa (Alvariño, 1993).

**- Folículo preovulatorio o de Graff.** En la coneja, estos folículos tienen un diámetro superior a 800-900  $\mu\text{m}$  (Kranzfelder et al., 1984) y el oocito mide entre 140-143  $\mu\text{m}$  (Jelinkova et al., 1994). El antro aumenta de tamaño y acumula gran cantidad de factores de crecimiento, hormonas peptídicas y esteroideas, proteínas, metabolitos energéticos y otras sustancias desconocidas (Sutton et al., 2003). Las células de la teca interna y externa están completamente formadas. Durante este periodo, el oocito apenas aumenta su tamaño (Pincus y Enzmann, 1935; Eppig, 2001) produciéndose el crecimiento de los folículos antrales principalmente por el aumento de líquido folicular (Bonhoff y Adams, 1985; Van der Hurk y Zhao, 2005).

La acción tanto de la hormona folículo estimulante (FSH, *Follicle Stimulating Hormone*) como de la hormona luteinizante (LH, *Luteining Hormone*) es esencial para el

desarrollo de dichos folículos antrales. Ambas gonadotropinas estimulan la esteroidogénesis ovárica a través de sus receptores. Las células de la granulosa expresan receptores para la FSH y poseen actividad aromatasa, enzima que cataliza la síntesis de 17- $\beta$  estradiol a partir de la androstenediona y testosterona procedente de la teca (con receptores para la LH) (Erikson y Ryan, 1975). A su vez, el pico de LH provoca la luteinización de las células de la granulosa del folículo preovulatorio y éstas entonces comienzan a sintetizar predominantemente progesterona en vez de estradiol (Van der Hurk y Zhao, 2005). La alteración de los niveles de estradiol y progesterona en el folículo preovulatorio pueden afectar a la actividad transcripcional del oocito durante la foliculogénesis (Eppig, 2001), así como a su crecimiento y maduración (Lorenzo et al., 1996a; Beker et al., 2002).

En la coneja adulta, el tiempo medio que tardaría un folículo primario en alcanzar el tamaño preovulatorio sería de unos 97 días (Mariana et al., 1989). Si no se produce el coito, las oleadas de desarrollo y regresión folicular son constantes siendo la dinámica habitual del ovario. Éstas, se producen en intervalos en torno a 10 días (Hill y White, 1933), coincidiendo con un tamaño folicular que va desde los 450  $\mu$ m (folículos antrales medianos), hasta que llegan al estadio preovulatorio (Díaz et al., 1987). Esto supone que los ciclos se superponen parcialmente cada 4-6 días. En particular, durante el periodo post-parto, Díaz et al. (1987), señalaron que aparecía una primera oleada folicular al final de la gestación, coincidiendo con la caída de los niveles de progesterona circulantes en los días 29 y 30 de la misma. Estas oleadas alcanzan su máximo desarrollo en torno al día 3 y 9 post-parto (Díaz et al., 1987; Ubilla y Rebollar, 1995) y después del destete, estando relacionadas con el aumento de la producción de 17- $\beta$  estradiol en el folículo y con la receptividad sexual (Lefèvre y Caillol, 1978; Molina et al., 1986). Teniendo en cuenta esta premisa, en cunicultura se han tratado de establecer los momentos más óptimos para realizar la inseminación artificial (IA) y los ritmos reproductivos más adecuados.

Por otra parte, el balance energético negativo en este periodo reduce la frecuencia y la amplitud de la pulsabilidad de la LH (Brecchia et al., 2006). Respecto a los factores metabólicos descritos anteriormente, los diferentes niveles de expresión del receptor de la leptina a lo largo del desarrollo folicular en la cerda (Craig et al., 2004), parecen indicar que esta hormona también ejerce un esfuerzo directo, negativo o positivo, en la esteroidogénesis, foliculogénesis y oogénesis (Brannian y Hansen, 2002) en función del estatus nutricional y la reserva de grasa corporal de las hembras. Asimismo, las concentraciones elevadas de los NEFA durante el periodo post-parto, ejercerían un efecto citotóxico en las células de la granulosa, lo que merma la calidad del folículo ovárico (Vanholder et al., 2005). La capacidad esteroidogénica y la calidad de los folículos preovulatorios pueden estar, además, determinadas por el ambiente bioquímico y endocrino previo a la lactación y mantenido durante un periodo prolongado de tiempo que se ha descrito en la vaca de al menos 80 días (Britt, 1992). Esto implica que estados fisiológicos alterados en un momento determinado de la vida reproductiva de una hembra pueden también afectar a medio o largo plazo a la calidad de los folículos, a la competencia de los oocitos preovulatorios y, por lo tanto, del embrión preimplantacional (Britt, 1992; Mc Evoy et al., 2001).

### **1.2.2.- Proceso de maduración del oocito**

La maduración de los oocitos se refiere a dos sucesos biológicos diferenciados: la maduración nuclear, determinada por las modificaciones en la cromatina inicial y; la maduración citoplasmática que, entre otros procesos, termina con la migración de los gránulos corticales hacia la periferia del oocito para impedir la polispermia (Ducibella et al., 1993; Hoodbhoy y Talbot, 1994). Ambos procesos son la culminación del desarrollo progresivo del oocito desde el inicio de la foliculogénesis y, a lo largo de ella, hasta la ovulación (Hyttel et al., 1997). La maduración de la zona pelúcida es también otro proceso asociado a la maduración de ovocito.

#### **1.2.2.a.- Maduración nuclear**

El paso previo a la ovulación del oocito consiste en la reducción de su material genético a la mitad (de  $2n$  a  $n$ ) mediante el proceso de la meiosis, dando lugar a dos células hijas haploides: el oocito propiamente dicho, que conserva casi la totalidad del citoplasma, y el corpúsculo polar, que contiene prácticamente sólo la dotación cromosómica. Esta fase se caracteriza por la presencia de una configuración nuclear prominente llamada vesícula germinal (VG) (Sutovsky et al., 1993). El pico preovulatorio de la LH desencadena la reanudación de la meiosis debido a la pérdida de las uniones "gap" entre las células del cúmulo y el oocito, a consecuencia de la expansión del cúmulo.

El reinicio de la meiosis se identifica por la rotura de la membrana de la VG, la desaparición de los nucleolos y la condensación de los cromosomas que se alinean en la placa metafísica (estadio de metafase I). A continuación, se separan los pares de cromosomas homólogos y la meiosis progresa hasta el estadio de metafase de la segunda división meiótica (metafase II) acompañada por la extrusión del primer corpúsculo polar (Deker, 2005). A este periodo se le conoce como maduración nuclear del oocito y es la forma en la que en condiciones normales ovula el gameto femenino de la coneja. El oocito permanece en estadio de metafase II en el oviducto hasta que se produce la fecundación. En ese momento se contempla la meiosis produciéndose la extrusión del segundo corpúsculo polar.

En la coneja, el proceso de condensación de la cromatina, se produce al final del periodo de crecimiento de los oocitos, antes de que se reinicie la meiosis (Motlik et al., 1989; Sutovsky et al., 1993). Por lo que se pueden observar cromosomas condensados en menor o mayor grado en el interior de la VG en función del tamaño del folículo del que procedan. Así, los oocitos de folículos con un tamaño en torno a 1 mm de diámetro presentan cromosomas bivalentes en el interior de la VG (Jelinkova et al., 1994).

Morfológicamente los estadios nucleares que se visualizan durante la maduración meiótica del oocito de la coneja son:

.- **VG (Vesícula Germinal)**. Con un núcleo rodeado por una membrana nuclear. Dentro de esta configuración, a su vez, se han descrito al menos dos estadios morfológicos en la coneja (Jelinkova et al., 1994):

.- Núcleo caracterizado por la presencia de fibras de cromatina con un grado menor o mayor de condensación.

.- Núcleo caracterizado por la presencia de cromosomas condensados previa a la rotura de la VG.

.- **VGBD (Rotura de Vesícula Germinal)**. Desaparece la membrana nuclear, indicio de que se ha reanudado la meiosis.

.- **M-I (Metafase I)**. Los cromosomas bivalentes ( $2n$ ) aparecen condensados al máximo en el ecuador del huso acromático.

.- **Anafase/Telofase I**. Los cromosomas homólogos se separan y avanzan hacia los polos del huso acromático.

.- **M-II (Metafase II)**. La mitad de los cromosomas homólogos ( $n$ ) aparecen condensados en la placa metafásica. La otra mitad se encuentra dentro del primer corpúsculo polar extruído.

### **1.2.2.b.- Maduración citoplasmática**

El citoplasma del oocito juega un papel crucial en el ensamblaje de la maquinaria metabólica para la producción de energía. Esta energía es necesaria para realizar las funciones celulares durante la maduración, fecundación y desarrollo embrionario temprano hasta la activación del genoma del embrión.

Durante la maduración del oocito, se produce la migración de los gránulos corticales hacia la periferia del mismo (Gulyas, 1974a; 1974b), distribuyéndose en una monocapa por debajo de la membrana plasmática, preparándose así para el momento de la fecundación (Wang et al., 1997a).

La función principal de los gránulos corticales reside en su capacidad para bloquear la poliespermia durante la fecundación del oocito mediante la reacción cortical (Fraser et al., 1972; Fléchon et al., 1975).

La migración de los gránulos corticales está correlacionada en un alto porcentaje con el proceso de maduración nuclear (Velilla et al., 2004). El fracaso de cualquiera de estos dos aspectos durante la maduración del oocito origina la imposibilidad de una fecundación correcta y del desarrollo embrionario posterior adecuado (Plachot y Crozet, 1992; Yang et al., 1998; Sirard, 2001). Esto indica que para evaluar el grado de maduración del oocito es interesante tener en cuenta ambos aspectos; la migración periférica de los gránulos corticales acompañada de la presencia de metafase II.

### **1.3.- DESARROLLO EMBRIONARIO PREIMPLANTACIONAL**

Los oocitos maduros son fecundados en la ampolla del oviducto alrededor de 2 horas después de la ovulación. A partir de este momento comienza el periodo preimplantacional del embrión, el cual evoluciona desde el estadio de cigoto hasta el de blastocisto pasando por estadios morfológicos de desarrollo diferentes: embrión pre-compactado, mórula y blastocisto.

El desarrollo embrionario preimplantacional in vivo se caracteriza por una división celular rápida y un aumento de tamaño durante los primeros días después de la fecundación comparado con el desarrollo in vitro (Seidel et al., 1976; Kane, 1987). Los cigotos progresan por el oviducto llegando al cuerno uterino ipsilateral alrededor de las 75 horas después de la ovulación, en el estadio de mórula o blastocisto temprano. Debido a que la coneja presenta un útero doble con dos cuernos uterinos independientes, los embriones se implantan en fase de blastocisto en el cuerno uterino ipsilateral a los 7 días.

Otra característica diferencial de la coneja es que las secreciones oviductales forman una capa de mucina (Seidel et al., 1976; Carney y Foote, 1990), formada por mucopolisacáridos que rodea a los embriones a su paso por el oviducto a partir de las 20 horas post-coito (Braden, 1952; Boving, 1957). Debido a esta cubierta, la zona pelúcida permanece intacta hasta el momento de la implantación, no produciéndose la eclosión o "hatching" del blastocisto in vivo de forma fisiológica (Denker y Gerdes, 1979). Sin embargo, mientras se produce la expansión del blastocisto, la zona pelúcida se va digiriendo hasta que desaparece alrededor del día 6 de gestación, es decir, un día antes de la implantación del embrión (Kane, 1975).

La presencia de la capa de mucina y su grosor (mínimo de 20  $\mu\text{m}$ ) son dos factores necesarios para la correcta implantación del embrión (Murakami e Imai, 1996). Sin embargo, los cigotos pueden desarrollarse en ausencia de la capa de mucina hasta el estadio de blastocisto en condiciones in vitro. Además, la zona pelúcida de estos embriones se puede romper produciéndose la "eclosión" del blastocisto, aunque algunos autores no consideran este fenómeno como realmente fisiológico en la coneja (Kille y Hamner, 1973).

Los estadios morfológicos de desarrollo del embrión pre-implantacional que se describen en la coneja son los siguientes:

**.- Embrión pre-compactado:** durante este periodo se inicia la división celular y se activa el genoma embrionario. Trabajos previos realizados en lagomorfos, han determinado que la primera división del cigoto ocurre en el oviducto entre las 22-25 horas post-coito, y que el genoma embrionario se activa en el estadio de 8 células (Telford et al., 1990). Los embriones de una célula no presentan aún capa de mucina.

.- **Mórula:** alrededor de las 50 horas post-coito, se pueden diferenciar embriones en estadio de mórula temprana (16 células), mórula compacta (32 células o más) o mórula cavitada (aparición de una pequeña cavidad que dará origen al blastocele). La compactación se considera un fenómeno imprescindible para el proceso de cavitación posterior en el cual se produce entrada de agua y Na<sup>+</sup> que permiten que se forme una cavidad en el seno del embrión y que es una de las características del siguiente estadio embrionario (Overstrom et al., 1989).

.- **Blastocisto:** después de la cavitación de la mórula y a partir de las 72 horas post-coito, los embriones empiezan a desarrollarse a blastocistos; entran en un proceso de crecimiento y expansión que da lugar a dos tipos de poblaciones celulares embrionarias: el trofoectodermo y la masa celular interna o botón embrionario, separados por el blastocele (Benos et al., 1985). Es en ese periodo cuando disminuye el grosor de la zona pelúcida, para que el embrión se pueda implantar adecuadamente.

Los procesos de foliculogénesis, desarrollo y maduración del oocito están estrictamente controlados por múltiples factores para generar un oocito competente capaz de ser fecundado correctamente para que dé lugar a un embrión viable. En este sentido, el número de embriones desarrollados en el periodo preimplantacional parece depender principalmente de la competencia de los oocitos, que a su vez dependerá del ambiente folicular del que procedan *in vivo* o de las condiciones del medio de maduración *in vitro*. Sin embargo, la calidad de los blastocistos, que determinará la capacidad de supervivencia de los mismos, está influida principalmente por el ambiente oviductal *in vivo*, o por las condiciones de cultivo después de la fecundación *in vitro* (Rizos et al., 2002; Lonergan et al., 2003a; 2003b; 2006). En particular, durante el periodo post-parto, el folículo, el oocito y el embrión están expuestos a cambios metabólicos y endocrinos debidos al déficit energético y a la lactación, los cuales pueden comprometer su viabilidad afectando a la tasa de fertilidad y/o prolificidad en último término (Leroy et al., 2008).

### **1.4.- ETAPAS CRÍTICAS EN LA PRODUCTIVIDAD**

Se habla de fertilidad y prolificidad como los parámetros básicos en la productividad de una explotación ganadera de cría.

La fertilidad depende directamente de la inducción de la ovulación, y tanto fertilidad como prolificidad dependen de la tasa de ovulación, de la fecundación y del desarrollo embrionario y fetal.

A continuación se desglosan cada uno de estos componentes:

#### **1.4.1.- La inducción de la ovulación**

La coneja es una especie de mamífero de ovulación inducida. La regulación de la secreción de GnRH es de naturaleza neuroendocrina, el primer mecanismo

involucrado es la activación de neuronas noradrenérgicas en respuesta a los estímulos somatosensoriales. Estas neuronas promueven la secreción de GnRH por parte de las terminaciones nerviosas de la eminencia media.

Sobre estas bases, Jones et al. (1976) observan que los niveles plasmáticos de LH en la coneja, comienzan a incrementarse 3 minutos después de la monta del macho, alcanzando la meseta a los 15 minutos.

Así pues, la inducción de la ovulación dependerá de dos factores: que haya una estimulación previa y que haya una población de folículos desarrollados suficiente. En los dos casos influyen un componente nutricional y el estado de lactación que pueden interferir, y que a su vez el componente nutricional puede verse alterado negativamente por el estado de lactación.

El principal problema que se encuentra en conejas primíparas (hembras que tienen gazapos de primer parto) es que además de presentar aún necesidades energéticas para su crecimiento, su aparato digestivo no ha alcanzado el volumen correspondiente a conejas adultas. Algunos estudios muestran que la capacidad de ingestión voluntaria de las conejas primíparas que simultáneamente se encuentran en lactación y gestación parece ser insuficiente para cubrir todas sus necesidades nutricionales tales como el crecimiento, la producción de leche y el desarrollo de los fetos (Barge et al., 1984; Maertens y De Groóte, 1988; Xiccato et al., 1995), ya que el déficit de energía causado por la producción de leche es responsable de una movilización de reservas intensa y reduce el funcionamiento reproductivo, situación que en el caso de las conejas primíparas está exacerbada. Además, cuando hay solape con lactación, hay una producción de prolactina que puede afectar a la secreción de GnRH por parte del hipotálamo, situación que dificulta el progreso de los folículos y que a su vez disminuye la cantidad de estrógenos y por tanto, se dificulta la receptividad de la hembra; este efecto puede ser mucho más marcado en hembras primíparas que se encuentran por primera vez en esta situación que en hembras múltiparas.

### **1.4.2.- La ovulación en la coneja**

Se define la tasa de ovulación como el número de oocitos generados por una hembra en un ciclo reproductivo. Habitualmente se estima a partir del número de cuerpos lúteos formados en los ovarios tras la inducción de la ovulación.

La tasa de ovulación está influenciada por muy diversos factores. Así, existe una relación inversa entre el formato de la raza y la tasa de ovulación, las razas gigantes son menos prolíficas (Hulot y Matheron, 1979). Incluso dentro de una misma raza o línea se ha demostrado que existe una relación positiva entre peso y tasa de ovulación (García, 1984).

Por otra parte, el estado reproductivo (nulípara, primípara lactante, primípara no lactante, múltipara no lactante y múltipara lactante), incluso el haber tenido ya un parto, también afectan a la tasa de ovulación (García, 1982; Torres et al., 1986).

Y por último, el ritmo reproductivo (intensivo o semi-intensivo) también ejerce un efecto sobre la tasa de ovulación. Selme y Prud'Hon (1973) observan que las conejas montadas post-parto tienen una menor tasa de ovulación.

### **1.4.3.- Fecundación y desarrollo embrionario preimplantacional**

Una vez inducidas a ovular las hembras, un cierto número de hembras no llegan a tener camada, en otros casos las pérdidas de óvulos o embriones no son totales, observándose que el número de crías paridas es ligeramente menor que la tasa de ovulación, y por último, una pequeña proporción de hembras alcanza el máximo número de crías definido por la tasa de ovulación.

Estos hechos advierten de una serie de pérdidas durante la gestación que pueden ser atribuidas en primer lugar, a fallos de fecundación, en segundo lugar a pérdidas en la implantación de los embriones y por último, a anomalías en la placentación y el desarrollo fetal. Las causas de estas pérdidas pueden ser diversas y recogen factores tanto genéticos (maternos y paternos) como ambientales (manejo y alimentación).

En términos generales, entre un 11% y un 18% de los óvulos liberados se pierden durante el proceso de fecundación y las primeras etapas de desarrollo embrionario hasta la implantación (6-7 días postcoito). Estas pérdidas pueden ser debidas a deficiencias parciales en el ambiente oviductal y/o uterino, así como a características propias de los gametos que determinan, por ejemplo, la fecundación de oocitos anormales o el desarrollo retardado o defectuoso de algunos de los embriones (Molina et al., 1987).

Entre estas características propias de los gametos figuran el envejecimiento de oocitos y espermatozoides o la ovulación de óvulos inmaduros.

Tales pérdidas preimplantatorias no pueden ser adscritas ni al proceso de captación infundibular de los óvulos liberados por el ovario ni al proceso de fecundación que, salvo en casos patológicos como infertilidad de los machos, son procesos altamente eficaces.

### **1.4.4.- Gestación: desarrollo fetal y parto**

#### **1.4.4.a- Pérdidas peri-implantacionales**

Muchos estudios han intentado cuantificar las pérdidas embrionarias en el periodo comprendido entre el día de la implantación hasta los 12 días postcoito. Así, las pérdidas parciales de embriones se sitúan entre un 10'5 y un 14'84% (Pla, 1984; Hulot y Matheron, 1979; Molina, 1987).

Mientras que si se considera el periodo post-implantacional hasta el final de la gestación, las pérdidas se sitúan entre el 18'3 y el 26'7% (Adams, 1960; Torres, 1986; Santacreu et al., 1990).

Así, pese a que todos los autores detectan este tipo de pérdidas, es notable la variación de los valores obtenidos para cada uno de ellos.

Según Adams (1960), aparece un pico de mortalidad entre los días 23 y 27 de gestación, coincidiendo con el período de expansión uterina, cuando la tensión sobre los fetos es máxima. Durante esta fase se presentan ya competencias entre los fetos que podrían determinar la muerte y reabsorción de parte de ellos.

### **1.4.4.b- Pérdidas fetales**

Respecto a los factores que influyen en la mortalidad perinatal, se pueden destacar el genotipo de la hembra (capacidad lechera, comportamiento maternal, etc.), la época del año en que se produjo el parto, lesiones hereditarias y congénitas, una componente maternal deficitaria y carencia de vitamina E.

El hecho de que una coneja pueda parir un número elevado de gazapos no implica en modo alguno que sea capaz de mantenerlos vivos todos hasta el destete, agudizándose tal incapacidad a medida que son mayores los requerimientos de los gazapos (Torres et al., 1986).

La etapa postnatal inmediata es la etapa en la que las pérdidas de gazapos son más importantes.

La explicación se encuentra en los elevados gastos energéticos del gazapo en su primera semana de edad debido a su pequeño tamaño y escaso aislamiento térmico. Además la coneja da de mamar sólo una o dos veces al día, por lo que si un gazapo deja de mamar un día, que normalmente suele ser el primero, pierde la vitalidad necesaria para mamar al día siguiente y acaba muriendo a los tres o cuatro días, según sus reservas energéticas iniciales (García-Ximénez y Vicente, 1991).

## **1.5.- NUTRICIÓN Y REPRODUCCIÓN**

Hasta ahora se ha estudiado toda una serie de procesos individuales. En la fisiología reproductiva in vivo, algunos se producen de forma paralela y otros son sucesivos, pero la realidad es que están todos integrados y dependen unos de otros. Se ha visto que el concepto de condición corporal, relacionado directamente con la nutrición, aparece nombrado de diferentes formas en función de los autores en todos los procesos. Por lo tanto se deduce que juega un papel muy importante en la función reproductiva.

El concepto de nutrición no hay que confundirlo con el de alimento o pienso. Nutrición engloba toda sustancia ingerida por los animales, tanto de forma continua como el caso del pienso concentrado, como de forma puntual como ciertos suplementos. Además de los nutrientes sólidos, la nutrición también engloba las sustancias líquidas, como el agua de bebida.

Así pues, el nivel de condición corporal de los animales va a depender en gran proporción del conjunto de todos estos nutrientes ingeridos por los mismos.

### **1.5.1.- Body Condition Score (BCS)**

La nutrición es uno de los factores más importantes que afectan a la función reproductiva. Muchos estudios muestran que la nutrición puede tener efectos tanto positivos como negativos en el crecimiento y maduración folicular, actividad estrogénica, calidad oocitaria, desarrollo embrionario y tasa de implantación uterina.

El nivel de condición corporal, llamado comúnmente en muchos textos anglosajones como BCS, es la proporción de grasa corporal que posee un animal y está reconocido tanto por científicos como por productores como un importante factor en vacas de producción de leche. El BCS está asociado directamente y permite predecir resultados de producción de leche, reproducción y salud (Roche et al., 2009).

En esta especie las tasas de reposición y mortalidad de hembras reproductoras por año son muy elevadas en relación a otras producciones. Estas se realizan siempre sobre los animales que presenten peor nivel de condición corporal y peor estado sanitario. Actualmente se conocen algunos marcadores metabólicos relacionados con la condición corporal como los ácidos grasos no esterificados (NEFA), glucosa o los ácidos grasos de cadena larga, los cuales afectan directamente la fisiología ovárica y la consecuente calidad de los gametos, que a su vez afecta a la viabilidad de los futuros embriones (Arias-Álvarez et al., 2009b).

Así pues, un buen nivel de condición corporal es prioritario en cualquier explotación de producción (Sánchez et al., 2012). Una alternativa al uso de alimentos con mayor energía puede ser suplementar el alimento diario con aportes extras de ciertas sustancias, que por sus puntuales necesidades no conviene aplicarlas junto con el concentrado.

### **1.5.2.- Suplementos nutritivos**

Debido a las restricciones en el uso de hormonas para evitar el consumo de carnes de animales tratados (Directiva 96/22/EC del 29 de abril de 1996) y al rechazo de los consumidores, se estudian otros métodos de sincronización que impliquen además mejoras energéticas en las conejas con un beneficio sanitario y de ahorro económico para las explotaciones cunícolas. Por ejemplo, se puede incrementar el nivel energético de la ración justo antes de la cubrición o de la inseminación artificial (IA) (Fortun-Lamothe, 2006).

Una de las sustancias utilizadas y probadas en la alimentación animal por su alto valor energético, es el propilenglicol (PG). Es un alcohol polihídrico incoloro, inodoro, ligeramente acre y dulce al gusto, miscible con el agua y con otros disolventes polares. En la Directiva del Consejo 91/248/EEC (la cual modifica la Directiva del Consejo 70/524/EEC) aparece en la lista de aditivos referenciados como E490, que recoge sus posibles aplicaciones y las cantidades a las que se debe incorporar en la alimentación animal. Es un compuesto precursor de la glucosa con un alto contenido energético (21 MJ Energía bruta/kg), y por ello se ha utilizado para prevenir la cetosis en vacuno lechero (Nielsen e Ingvarstsen, 2004; Chung et al., 2009).

Estudios anteriores demuestran que en las conejas se podía lograr una recuperación favorable y un aumento de la fertilidad cuando el PG se añade tras el parto disuelto en el agua de bebida (Luzi et al., 2001). También se ha estudiado su adición al pienso (Nicodemus et al., 2005) y se observa que disminuye la mortalidad de las conejas y el intervalo de días entre el parto en sistemas con monta natural efectiva. En cuanto a la aplicación de PG en periodos prolongados de tiempo, Grummer et al. (1994) descubren que incrementando la cantidad de PG, se aumenta linealmente la cantidad de glucosa e insulina y desciende los beta-hidroxibutiratos y ácidos grasos no esterificados (AGNE) en la sangre de terneras Holstein. Finalmente, Sakr et al. (2011) estudian el efecto de la aplicación prolongada de PG sobre el peso, composición corporal, consumo de alimento y fertilidad de las conejas durante los dos primeros ciclos reproductivos, concluyendo que dicha aplicación no resulta en mejoras del peso ni en la composición corporal de las conejas. Además, al aplicarlo durante la gestación y la lactación, observan que no sólo no mejora el balance energético de las conejas, sino que deprime sus reservas energéticas como consecuencia de reducir el consumo de alimento.

Por otra parte, hay que tener en cuenta estudios realizados en otras especies donde aumentar la energía con la dieta algunos días antes del coito da buenos resultados (Ebling y Foster, 1991; Fink et al., 1998; Khireddine et al., 1998).

### **1.6.- ESTRÉS TÉRMICO Y REPRODUCCIÓN**

El cambio climático se puede definir como la transformación irreversible de las condiciones climáticas en amplias zonas de la Tierra, debida a la acción simultánea de los factores naturales y antrópicos.

Existe un creciente interés en este tema, que resulta de gran actualidad, dadas las importantes implicaciones para la vida humana que ello representa. Entre otras consecuencias, el cambio climático está comportando diversos hechos: aumenta la temperatura media del aire, se acortan los inviernos, las noches son más cálidas, aumenta la frecuencia de sequías y también de las inundaciones, y se reducen los períodos bioclimáticos confortables. La previsión apunta que, aunque se reduzcan las

actuales emisiones de gases, la temperatura global se elevará por el efecto de acumulación de estos procesos dando lugar a un aumento de las temperaturas medias y máximas hacia el año 2020 de 1.5 a 2.1°C.

### **1.6.1.- Efectos del estrés térmico**

El estrés térmico afecta negativamente al crecimiento y reproducción animal y reduce su resistencia a enfermedades, afectando al bienestar. La situación de estrés térmico existente en los sistemas de producción se vería agravada si se cumplen las previsiones de aumento en temperaturas medias y máximas durante los próximos años. Por ello, parece necesaria la utilización de estrategias complementarias orientadas a aliviar los efectos del estrés por calor, como disponer de animales que por sus genes tengan una mayor termotolerancia y acumulando mayor conocimiento sobre efectos específicos del estrés térmico sobre fisiología animal.

Un aumento de la temperatura ambiental supone que el flujo de sangre de la circulación interior es transferido a la circulación periférica, un mecanismo que trata de reducir la temperatura corporal. Este hecho trae asociado una consecuente reducción en el flujo de sangre a los órganos interiores, incluidos el útero, oviductos y ovarios, con lo que disminuye la disponibilidad de nutrientes a nivel de estos tejidos, a la par que se da un incremento de los productos bioquímicos de desecho.

El estrés por calor se origina por cualquier combinación de parámetros ambientales que produzcan condiciones fuera de los límites de la zona térmica neutral de los animales (Buffington et al., 1981 en Ravagnolo y Misztal 2002b). La hipertermia puede ocurrir a temperaturas tan bajas como 27°C (Berman et al., 1985). De esta manera, el problema del estrés por calor se extiende a muchas regiones, no sólo en los trópicos. Este tipo de estrés puede afectar tanto a la fisiología como a la producción del ganado. El efecto sin duda más importante del estrés por calor es la disminución de la fertilidad (DeRensis y Scaramuzzi, 2003; López-Gatius, 2003).

El estrés por calor provoca una disminución de la ingesta de materia seca por parte del animal, hecho que puede hacerle entrar en balance energético negativo (Drew, 1999) y disminuir las concentraciones plasmáticas de insulina, glucosa y IGF-I, y incrementar las concentraciones de GH y ácidos grasos no esterificados (Butler, 2001). A este hecho se le deben sumar los efectos directos del estrés por calor: FSH (aumenta) y estradiol (disminuye) (Wolfenson et al., 1997; Wilson et al., 1998). Esto puede causar una selección folicular pobre, repercutiendo en la calidad oocitaria (Roth et al., 2001a,b). Por otro lado, el estrés por calor puede incrementar la temperatura uterina disminuyendo el flujo sanguíneo al útero. Estos cambios inhiben el desarrollo embrionario (Rivera and Hansen, 2001), incrementan las pérdidas embrionarias tempranas y reducen la proporción de inseminaciones fértiles (García-Ispuerto et al., 2007).

Los conejos son muy sensibles al estrés por calor pues poseen pocas glándulas sudoríparas funcionales con lo que tienen dificultad para eliminar el exceso de

## INTRODUCCIÓN

temperatura corporal (Marai et al., 2002). La exposición de estos animales a elevados índices de temperatura y humedad (>30), afecta negativamente a su crecimiento y reproducción y reduce su resistencia a enfermedades. En las hembras disminuye la tasa de concepción, tamaño de camada, y peso de la camada, y aumenta la edad a la pubertad y la mortalidad en el nido. En machos disminuye la calidad seminal y de los eyaculados y, el deseo sexual (Marai et al., 2002).

Por lo tanto, en este trabajo se plantea utilizar el propilenglicol como sustancia para realizar un flushing energético en el momento óptimo previo a la ovulación, estudiar si ejerce algún efecto sobre la productividad y de ser así, determinar la etapa sobre la que se produce dicho efecto. Además, en el último experimento se realiza un estudio factorial para determinar si el flushing puede ocasionar algún efecto sobre la mitigación de los efectos del estrés térmico sobre el desarrollo embrionario preimplantacional.