

EVALUACION POR LAPAROSCOPIA DE LAS PERDIDAS
EMBRIONARIAS Y FETALES EN EL CONEJO DOMESTICO:
~~EFFECTOS DE LA TASA DE OVULACION~~

I. MOLINA;M. PLA; F. GARCIA.

Departamento de Ciencia Animal.
Universidad Politécnica de Valencia.
E.T.S.I. Agrónomos
Camino de Vera, 14. 46020 Valencia.

RESUMEN

Se utilizaron 39 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes, fueron laparoscopizadas a los 12 días postcoito precediéndose al conteo de los embriones en desarrollo y en regresión presentes en cada cuerno uterino, así como del número de cuerpos lúteos de cada ovario y anotándose, también el resultado del parto y número de gazapos vivos y muertos presentes en cada camada. Se estudiaron las pérdidas embrionarias PAP (pérdidas anteriores a la placentación), PDP (pérdidas durante la placentación) y PPP (pérdidas posteriores a la placentación) relativas a la TOT (tasa de ovulación total) y TOD (tasa de ovulación diferencial entre ovarios) observándose una fuerte independencia entre la TOT y la TOD, así como que la TOD no afecta a las pérdidas embrionarias en ninguno de los períodos considerados. Por otra parte la TOT ejerce un efecto negativo sobre la viabilidad embrionaria, siendo este menor a medida que avanza la gestación.

INTRODUCCION

Han sido muy numerosas las experiencias de superovulación realizadas en distintas especies: ovino (THIBAUT et al., 1984; FINDLAY et al., 1976); conejo (HAFEZ, E.S.E., 1964; MORIN et al., 1976); porcino (FENTON et al., 1972; BAZER et al., 1979), hamster (GREENLAND, 1974; BEX et al., 1975). En dichas experiencias se ha podido comprobar que una elevada tasa de ovulación ejerce un efecto desfavorable sobre el número de embriones que llegarían a término, influyendo de forma especialmente importante sobre las pérdidas fetales posteriores a la implantación, debido a competencias entre los fetos por el espacio uterino y los nutrientes (HAFEZ, 1964). Sin embargo, las elevadas pérdidas preimplantarorias observadas en dichas experiencias de superovulación serían debidas a anomalías cromosómicas, observándose además retrasos en el desarrollo y degeneraciones de dichos embriones (HANN et al., 1979, BRAUN et al., 1979, 1980; LEE et al., 1983).

ADAMS (1960) observa que las pérdidas que se producen antes de la implantación, en condiciones reproductivas normales, son las más numerosas, mientras que de las pérdidas posteriores a la implantación, cerca del 70%, se producirían durante los días 9 y 17, período éste que incluye el inicio de la placentación y que es crítico para el embrión. Este mismo autor propone la existencia de un pico secundario de mortalidad entre los días 17 y 23 postcoito, que se correspondería con la fase de expansión uterina. Sin embargo, una vez que ha tenido lugar la elongación del feto, la viabilidad hasta cerca del parto estaría prácticamente asegurada.

Por otra parte, en distintas experiencias de selección por tasa de ovulación, realizadas en porcino y ratón (LAND et al., 1969; BRADFORD, 1969; CUNNINGHAM

et al., 1979) se ha podido comprobar, que aunque se obtuvo respuesta a la selección para tasa de ovulación no ocurrió lo mismo en el tamaño de la camada, dado que en estas especies, el factor limitante que definía dicho tamaño no era la insuficiencia en la tasa de ovulación, sino la capacidad uterina limitada. Este hecho fue comprobado por BAZER et al., (1979) con experiencias de superovulación en porcino, observando que la presencia de un número elevado de embriones puede aumentar el tamaño de la camada, viéndose éste solamente limitado por la capacidad uterina.

HAFEZ (1964) observa que aunque la capacidad de implantación en el conejo es muy superior a la habitualmente observada, el hacinamiento de los embriones origina una alta tasa de mortalidad postimplantatoria, debido precisamente a la competencia entre los fetos y sus placentas por la disponibilidad de espacio y nutrientes.

Tanto la cerda como la coneja comparten las características de presentar una elevada tasa de ovulación no distribuida equivalentemente entre ambos ovarios; sin embargo la coneja posee completamente separados la parte izquierda y derecha de su tracto reproductor, lo que imposibilita la migración transuterina de embriones, hecho éste que sí se produce en la cerda. Esta situación diferencial entre ambas especies, podrá ejercer un efecto perjudicial en la coneja, al ocasionar una acumulación de embriones adicionales a las explicadas por una mayor o menor tasa de ovulación total de ambos ovarios; diversos autores (ADAMS, 1960; GARCIA, 1982; GARCIA et al., 1983; PLA, 1984) han observado la existencia de notables pérdidas embrionarias y fetales asociadas a la elevada tasa de ovulación característica de esta especie.

En el presente trabajo se estudian las pérdidas embrionarias y fetales en tres etapas de la gestación:

previas a la placentación, durante ésta y desde el establecimiento funcional de la placenta hasta el parto, estimándose además los posibles efectos de la tasa de ovulación total y diferencial de ambos ovarios sobre dichas pérdidas embrionarias y fetales en cada una de las etapas consideradas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 39 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes, adaptadas a jaulas con suelo de rejilla y alojadas en condiciones de ambiente controlado con 16 horas de iluminación diaria. La entrada en reproducción se realizó a los 4 meses y medio de edad.

Las hembras fueron observadas por laparoscopia a los 12 días postcoito. El anestésico utilizado consistió en una mezcla lítica de 5 partes de clorhidrato de ketamina (50 mg/cc) y una parte de acepromacina. La dosis de inducción se administró por vía intramuscular, mientras que la de mantenimiento se perfundió por vía intravenosa canulando la vena marginal de la oreja. Se utilizó un laparoscopio pediátrico con un endoscopio rígido de ángulo de campo de visión de 180° y 5 mm. de diámetro, conectado a una fuente de luz fría, vainas de trocar piramidal para el endoscopio y sonda de palpación; cánula verres para la insuflación abdominal, el gas utilizado fue dióxido de carbono. Para la laparoscopia se requirieron tres punciones, la primera para insertar la cánula verres e insuflar el abdomen con un insuflador automático conectado a una bala de dióxido de carbono (CO₂), la segunda para la inserción del endoscopio y la última para la colocación de la sonda de palpación. Se procedió al conteo del número de embriones en desarrollo y en regresión presentes en cada cuerno uterino (las estructuras vascularizadas se consideran embriones en desarrollo, asimismo las estructuras de

tamaño muy reducido en relación con las anteriores y escasamente vascularizadas se consideran embriones en regresión), así como del número de cuerpos lúteos de cada ovario. La ventaja adicional de esta técnica en el presente trabajo radica en que se han podido evaluar las pérdidas en las distintas etapas consideradas (anteriores a la placentación, durante ésta y hasta el parto) sobre el mismo animal, lo que implica la eliminación de un importante factor de variación.

Dichas conejas fueron controladas hasta el parto, anotándose el resultado de éste, así como el número total de gazapos presentes en cada camada (vivos y muertos).

En el análisis de los datos se contempla conjuntamente el efecto de la tasa de ovulación total y diferencial entre ovarios sobre las pérdidas embrionarias en cada una de las etapas consideradas.

Para la realización de los análisis se utilizó el paquete estadístico BMDP (DIXON et al., 1983) implementado en el ordenador UNIVAC 5100 del Centro de Cálculo de la Universidad Politécnica de Valencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se presentan las medias, coeficientes de variación y valores extremos de las variables consideradas. Del total de las hembras que ovularon, en ningún caso se encontró una tasa de ovulación total (TOT) inferior a 6, lo que confirma los resultados obtenidos por nuestro equipo (GARCIA et al., 1983; PLA, 1984; MOLINA et al., 1986) en cuanto a la posible existencia de un número mínimo de folículos preovulatorios requeridos para que se desencadene el mecanismo de la ovulación. Se observa también la existencia de un amplio rango de variación para la tasa de ovulación diferencial (TOD) hecho también observado

por MOLINA et al., (1986) en anteriores trabajos.

Las pérdidas anteriores a la placentación (PAP), estimadas como la diferencia entre al número de folículos que han ovulado y el número de embriones tanto en desarrollo como en regresión, presentes a los 12 días postcoito, presentan en algunos casos valores negativos dado que, como indica ADAMS (1960), la presencia de ovulaciones dobles en coneja está próxima al 10%, fenómeno éste ya observado con anterioridad por MOLINA et al., (1986).

En el presente trabajo las pérdidas anteriores a la placentación (PAP) representaron un 17.31% de la TOT (estimada por el número de cuerpos lúteos presentes en ambos ovarios), incluyéndose las pérdidas de óvulos y embriones así como los fallos en la fecundación, las pérdidas durante la placentación (PDP) se sitúan en torno al 3.42% de la TOT; mientras que las pérdidas posteriores a la placentación (PPP) suponen un 14.84% también respecto a la TOT. La cuantía total de las pérdidas de embriones y fetos a lo largo de toda la gestación se sitúan así en un 35.58% de la TOT. En cuanto a las pérdidas totales de embriones sólo se detectaron en la etapa posterior a la placentación y afectaron únicamente a 2 hembras sobre un total de 39.

La importancia relativa de las pérdidas en cada una de las etapas consideradas, así como su cuantía están de acuerdo con los resultados obtenidos por diversos autores. ADAMS, (1960) evalúa las pérdidas parciales previas a la implantación en torno a 11.4% mientras que HULOT y MATHERON, (1980) obtienen un 21% para la raza California y un 15% para la Neozelandesa. PLA, (1984) obtiene un 31.2% de pérdidas parciales 7 días postcoito. En cuanto a las pérdidas parciales desde el día de la implantación hasta el día

12 postcoito PLA, (1984) las cifra en un 10%. ADAMS, (1960) considerando el período postimplantatorio hasta el final de la gestación las evaluó en un 18.3% de las que un 70% se producirían alrededor del día 13 de gestación. HULOT y POUJARDIEU (1976) para el período de los 12 primeros días de gestación encontraron un 13.5% de pérdidas parciales.

GARCIA et al., (1983) estudiando las pérdidas acumuladas relativas a la tasa de ovulación total obtiene un 39% de pérdidas parciales a los 7 días postcoito observando el mismo valor (39%) cuando las consideran hasta los 12 días postcoito, mientras que hasta los 19 días postcoito encuentran un 30% de pérdidas embrionarias. El hecho de que dichos autores utilizaran lotes de animales distintos para evaluar cada una de las pérdidas para cada uno de los períodos considerados, conduce a la obtención de unos resultados que de inicio parecerían contradictorios, pero que, sin embargo, ponen de manifiesto la escasa relevancia en la cuantía de las PPP.

En cuanto a las pérdidas totales previas a la implantación, ADAMS, (1960) las evaluó en un 4.8%, SELME y PRUD'ON, (1973) en un 10%, HULOT y MATHERON, (1980) en un 15% y PLA, (1984) detecta un 4.88%, valor muy superior al encontrado por ADAMS, (1960) que sólo observa pérdidas totales en esta etapa en una coneja sobre un conjunto de 126 animales. En la revisión bibliográfica realizada, no se han encontrado datos referentes a pérdidas totales posteriores a la placentación.

En el Cuadro 2 se observan los coeficientes de correlación entre las distintas variables. La TOT y TOD están incorrelacionadas, lo que permite afirmar la existencia de un fuerte grado de independencia entre ellas. Asimismo TOT no está correlacionada significativamente con PDP ni con PPP, pero sí con PAP,

siendo positivo el signo de sus coeficientes de correlación con los tipos de pérdidas estudiadas y pudiendo afirmarse que en condiciones reproductivas normales, el efecto negativo de una mayor TOT sobre la supervivencia de los embriones es tanto menor cuanto más avanzada está la gestación. Resultados éstos plenamente concordantes con los obtenidos en anteriores trabajos (MOLINA et al., 1986).

Como ya se ha indicado antes, en la coneja, dada la separación absoluta de sus cuernos uterinos, la TOD pudiera ser causa de pérdidas adicionales a las derivadas estrictamente de una mayor TOT sobre todo en etapas tardías de la gestación. Sin embargo, en las condiciones en que se realizó el presente trabajo, dicho efecto no se ejercería dado que la TOD no está relacionada con PAP, PDP ni PPP. Estos resultados son plenamente concordantes con los obtenidos por TORRES (1982) en el sentido de que el desequilibrio observado en la tasa de ovulación entre ambos ovarios en condiciones reproductivas normales no es un factor limitante para el número de embriones que prosiguen su desarrollo en el cuerno que ha presentado una mayor sobrecarga embrionaria.

Existe un fuerte grado de independencia de PPP con respecto a PAP y PDP. Este hecho viene a indicar que las causas determinantes de unas y otras pérdidas son totalmente distintas e independientes de la TOD.

En el Cuadro 3 se presentan las ecuaciones de regresión múltiple establecidas entre cada uno de los tres tipos de pérdidas embrionarias y la TOT y la diferencial, en las que se confirma que sólo la TOT y en ningún caso la TOD, determina pérdidas de embriones durante la gestación: significativamente distintas de cero para la etapa previa a la placentación, próxima a la significación durante la placentación y no ejerciendo ningún efecto significativo sobre las pérdidas posteriores a la placentación.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo no permiten afirmar, salvo para condiciones reproductivas normales, la inexistencia de posibles efectos de la TOT y TOD sobre las pérdidas de embriones en general y sobre todo en las etapas más tardías de la gestación, cuando la TO en uno u otro o en ambos ovarios sea superior a la observada en este trabajo, bien al realizar experiencias de superovulación, transferencia de un número elevado de embriones o de selección para mayor TO.

CONCLUSIONES

1. Se manifiesta la existencia de un fuerte grado de independencia entre TOT y TOD.
2. El efecto negativo de una mayor TOT sobre la viabilidad embrionaria es tanto menor cuanto más avanzada está la gestación en condiciones reproductivas normales, mientras que la TOD no afecta a las pérdidas embrionarias en ninguno de los períodos considerados (PAP, PDP, PPP).
3. Las causas determinantes de PAP y PDP son totalmente distintas de las que actuarían sobre PPP.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido subvencionado por la C.A.I.C.Y.T. como parte del proyecto nº 3192-83.

CUADRO 1

Medias, coeficientes de variación (CV) y valores extremos de las variables citadas en el texto: TOT (tasa de ovulación total), TOD (tasa de ovulación diferencial) EDT12 (embriones en desarrollo totales a 12 días post-coito), NT (nacidos totales vivos y muertos), PAP (pérdidas anteriores a la placentación), PDP (pérdidas durante la placentación) y PPP (pérdidas posteriores a la placentación).

	MEDIA	CV	MENOR VALOR	MAYOR VALOR
TOT	10.51	0.1785	6.00	14.00
TOD = (OI -OD)	2.33	0.7380	0.00	6.00
EDT12	8.33	0.2543	4.00	13.00
NT(V+M)	6.77	0.3915	0.00	11.00
PAP (=TOT-EDT12+ERT12)	1.82	1.0150	-1.00	7.00
PDP (=ERT12)(*)	0.36	2.0696	0.00	3.00
PPP (=EDT12-NT)	1.56	1.2077	0.00	7.00

(*) ERT12 = Embriones en regresión totales a los 12 días.

CUADRO 2

Matriz de correlaciones entre las variables definidas en el texto.

	TOT	TOD	EDT12	NT	PAP	PDP	PPP
TOT	1.000						
TOD	-0.087	1.000					
EDT12	0.439**	0.099	1.000				
NT	0.220	0.156	0.708**	1.000			
PAP	0.392*	-0.221	-0.596**	-0.476**	1.000		
PDP	-0.299	0.048	-0.262	-0.278	0.202	1.000	
PPP	0.184	-0.108	0.129	-0.609**	-0.000	0.096	1.000

** Sig. al 99%

* Sig. al 95%

CUADRO 3

Ecuaciones de regresión para los análisis de regresión múltiple tanto para PAP (pérdidas anteriores a la placentación) como para PDP (pérdidas durante la placentación) y PPP (pérdidas posteriores a la placentación); variables independientes TOT (tasa de ovulación total y TOD (tasa de ovulación diferencial).

Variable dependiente	Intersec. Y	Variable independiente TOT		Variable independiente TOD		ANOVA P. cola	R ²
		Coef. de regresión	P.de cola	Coef. de regresión	P.de cola		
PAP	-1.59495	+0.36965	0.0175	-0.20269	0.2204	0.0233	0.2884
PDP	-0.98656	+0.12085	0.0632	+0.03215	0.6425	0.1667	0.0947
PPP	-0.05654	+0.17671	0.1909	-0.10161	0.5751	0.4601	0.0422

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADAMS, C.E., 1960. Studies on prenatal mortality in the rabbit: The amount and distribution of loss before and after implantation. *J. Endocrin.*, 19: 325-344.
- BAZER, F.W.; ROBINSON, O.W.; GLAWSON, A.J. y ULBERG, L.C., 1979. Uterine capacity at two stages of gestation in gilts following embryo superinduction. Series of the North Carolina State University Agricultural Experiment Station. Paper nº 2761.
- BEX, F.J.; GOLDAMN, B.D., 1975. Serum gonadotrophins and follicular development in the Syrian hamster. *Endocrinology*, 96: 928-933.
- BRADFORD, G.E., 1969. Genetic control of ovulation rate and embryo survival in mice. I. Response to selection. *Genetics*, 61: 905-921.
- BRADFORD, G.E.; NOTT, C.F.G., 1969. Genetic control of ovulation rate and embryo survival in mice. II. Effects of crossing selected line. *Genetics*, 63: 907-918.
- BRAUN, J., 1979. Morphology and capacity for development of embryos from superovulated rabbit.
- BRAUN, J., 1980, Effect of superovulation on the morphology, cultivation and deep-frozen preservation of rabbit ova. *ZGL. Vet. Med. A.*, 27: 212-220.

- CUNNINGHAM, P.J.; ENGLAND, M.E.; YOUNG, L.D.; ZIMMERMAN, D.R., 1979. Selection for ovulation rate in swine: correlated response in litter size and weight. *J. Anim. Sci.*, 48(3): 504-516.
- DIXON, W.J.; BROWN, M.B.; ENGELMAN, L.; FRANE, J.W.; HILL, M.A.; JENNRICH, R.I.; TOPOREK, J.D., 1983. Statistical software. University of California Press.
- FENTON, F.R.; SCHWARTZ, F.L.; FULLER, W.; BAZER, W.; ROBINSON, O.W.; ULBERG, C.C., 1972. Stage of gestation when uterine capacity limits embryo survival in gilts. *J. Anim. Sci.*, 35(2): 383-388.
- FINDLAY, J.K.; CUMMING, I.A., 1976. Increase in ovulation rate in sheep following administration of an LH-RH analogue. *Biol. Reprod.* 15: 115-117.
- GARCIA, F., 1982. Genética y selección de caracteres en el conejo de carne. Tesis doctoral. U.P. de Valencia.
- GARCIA, F.; BASELGA, M.; PLA, M., 1983. Mortalidades embrionaria y fetal en distintas etapas de la gestación en el conejo de carne. *Anales del I.N.I.A.*, 18: 11-27.
- GREENWALD, G.S., 1974. Quantitative aspects of follicular development in untrated and PMSG-trated cyclic hamster. *Anat. Rec.*, 178: 139-144.
- HAFEZ, E.S.E., 1964. Effects of over crowding in utero on implantation and fetal development in the rabbit. *J. Exp. Zool.*, 156: 269-287.

- HAFEZ, E.S.E., 1964. Fluctuations in ovulation rate and superovulatory response of the domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Acta. Zool.*, 45: 123-131.
- HAFEZ, E.S.E., 1969. Superovulation and preservation of mammalian eggs. *Acta Endocrinológica Supp.*, 740: 5-44.
- HAHN, J.; ADY, G.; SCHNEIDER, U., 1979. The influence of superovulation on the development of rabbit ova fertilised in vitro.
- HULOT, F.; MATHERON, G., 1980. Comparison de la reproduction de lapins de deux genotypes, effets de l'age de la saison. II Congreso Mundial de Cunicultura. Vol. I: 293.
- HULOT, F.; POUJARDIEU, B., 1976. Induction artificielle de l'ovulation et fertilité chez la lapine (*Oryctolagus cuniculus*) allaitante ou non. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 16: 335-343.
- LAND, R.B.; FALCONER, D.S., 1969. Genetics Studies of ovulation rate in the mouse. *Genet. Res.*, 13: 25-46.
- LEE, K.K.; SUZUKI, H.; TSUTSUMI, Y., 1983. Effects of induced ovulation in pregnant rabbits on their fetuses and maintenance of pregnancy. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 54(2): 90-96.
- MOLINA, I.; PLA, M.; GARCIA, F., 1986. Efectos de la tasa de ovulación sobre las pérdidas de embriones previas a la placentación en conejo. Symposium de cunicultura. Teruel 1986. Resumen. pp.: 83-103.

- MOLINA, I.; PLA, M.; GARCIA, F., 1986. Tamaño de los blastocistos y pérdidas embrionarias tempranas 4 días postcoito en coneja. Symposium de Cunicultura. Guadalajara 1987. (Remitido).
- MORIN, X.; LEMOINE, G.; COULMIN, J.P., 1976. Influence de la gonadotrophine serique (PMS-G) et de la gonadotrophine chorionique (HCG) sur la reproduction des lapines. I. Congreso Internacional Cunicole. Dijon-France.
- PLA, M., 1984. Modelos biológicos de caracteres reproductivos en el conejo de carne. Tesis doctoral. U.P. de Valencia.
- SELME, M.; PRUD'HON, M., 1973. Comparison in different seasons of the year, of ovulation and implantation rates and embryonic survival in lactating does mated at the post-partum oestrus and in control does. En Journées de Recherches avicoles et cunicoles. Institute Technique de l'aviculture. 1974. pp. 55-58.
- THIBAUT, G.; ORTAVANT, R.; LAPLAUD, M., 1984. Recherches sur la superovulation experimentales chez la Brebis. Ann. Endocr., 9: 83-89.
- TORRES, S., 1982. Etude de la mortalite embryonnaire chez la lapine. 3emes Journées de la Recherche cunicole. December, 1982. Paris. Communication n° 15.
- TROUNSON, A.O.; MOORE, N.W., 1974. Fertilization in the ewe following multiple ovulation and uterine insemination. Aust. J. Biol. Sci., 27: 302-304.