

# Las dietas suplementadas con ácidos grasos poliinsaturados n-3 mejoran el desarrollo feto-placentario de las conejas

*Diets supplemented with polyunsaturated fatty acids n-3 improve fetal-placental development of rabbit does*

**Rodríguez M.<sup>1</sup>, López-Tello J.<sup>2</sup>, Formoso-Rafferty N.<sup>2</sup>, García-García R.M.<sup>3</sup>, Arias-Álvarez M.<sup>2</sup>, Lorenzo P.L.<sup>3</sup>, Rebollar P.G.<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Dept. Producción Agraria, E.T.S.I. Agrónomos, UPM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

<sup>2</sup>Dept. Producción Animal, Fac. de Veterinaria, UCM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

<sup>3</sup>Dept. Fisiología (Fisiología Animal), Fac. de Veterinaria, UCM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

\*Dirección de contacto: pilar.grebollar@upm.es

## Resumen

Un total de 74 conejas nulíparas de 8 semanas de edad se distribuyeron al azar en dos grupos desde la recría hasta el primer parto. Se alimentaron con dos piensos isofibrosos, isoenergéticos e isoproteicos formulados con dos fuentes de grasa diferentes: manteca (grupo Control, n=34) y un suplemento a base de aceite de salmón rico en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3 (grupo AGPI, n=34) con un nivel de inclusión del 6% (30 g/kg). Durante la recría recibieron 130 g/día y 10 días antes de la inseminación se alimentaron ad libitum. Las tres primeras semanas de gestación, se restringieron de nuevo y consumieron pienso ad libitum la última semana de la misma. De cada grupo, 5 animales fueron eutanasiados el día 28 de gestación para determinar el desarrollo feto-placentario, y en el resto, la gestación se llevó a término para determinar los parámetros productivos de fertilidad y prolificidad. El consumo de las conejas suplementadas fue menor que el de las controles durante su disposición ad libitum. Aunque no hubo diferencias en el recuento de cuerpos lúteos ni de fetos el día 28 de gestación, el grosor de la placenta fetal (laberinto) y los fetos de las conejas suplementadas fueron significativamente mayores a los del grupo control. Hecho que se explicaría por la correlación positiva observada entre ambos parámetros y que no se observó con la parte maternal (decidua) de la placenta. La suplementación del pienso con AGPI n-3 también mejoró el número de nacidos vivos y muertos. En conclusión, la inclusión de AGPI n-3 aunque disminuye el consumo, mejora el desarrollo feto-placentario y los parámetros productivos de las conejas.

**Palabras clave:** AGPI, feto, placenta, prolificidad, coneja.

## Abstract

A total of 74 nulliparous 8 weeks old were randomly distributed in two groups until the first parturition. They were fed with isofibrous, isoenergetic and isoproteic diets, each one supplemented with a different source of fat: lard for control diet (Control group; n=37) and a salmon oil supplement rich in polyunsaturated fatty acids n-3 (AGPI group; n=37) with an inclusion level of 6% (30 g/kg). During the rearing rabbits received 130 g per day, and 10 days before insemination they were fed ad libitum. Throughout the first three weeks of gestation, they were feed-restricted again, and ad libitum feed during the last week. From each group, 5 animals were euthanized on day 28 of gestation to determine the fetal-placental development. For the rest of does, pregnancy was finished in order to determine productive parameters of fertility and prolificacy. During ad libitum feeding period, feed intake of supplemented rabbits was lower than in control ones. Even though there were no significant differences in the number of corpora lutea and fetuses on day 28 of gestation, the thickness of fetal placenta (labyrinth) and fetuses of supplemented rabbits was significantly larger than the control group. This could be explained by the observed positive correlation between both parameters, which had not been observed with maternal part (decidua) from the placenta. Furthermore, dietary supplementation with n-3 PUFA also improved the number of born alive and stillborn rabbits. In conclusion, although the inclusion of n-3 PUFA decreases the feed intake, it has been proved to enhance fetal-placental development and productive parameters in rabbit does.

**Keywords:** PUFA, foetus, placenta, prolificacy, rabbit doe.

## Introducción

En trabajos previos hemos demostrado que el suministro de niveles de inclusión bajos (7,5 g/kg), pero de manera prolongada de un suplemento rico en ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) n-3 en el pienso de las conejas reproductoras, tiende a incrementar las concentraciones de progesterona los días 5-7 de gestación, aumenta el tamaño de sus recién nacidos y disminuye la mortalidad a nacimiento (Rebollar et al., 2014). También hemos visto que el consumo de pienso disminuye al incrementar bruscamente los niveles de inclusión de 7,5 a 15 g/kg durante la primera lactación, aunque la fertilidad a segundo parto mejora (Rodríguez et al., 2014). El objetivo de este trabajo fue estudiar cómo afecta un incremento aún mayor en el nivel de suplementación al desarrollo feto-placentario y a los parámetros productivos, así como su repercusión en el consumo de las conejas.

## Material y métodos

Un total de 74 conejas con 8 semanas de edad (Neozelandés blanco x Californiano), alojadas en la granja experimental de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid (20-25°C, 16HL:8HO) se distribuyeron al azar en dos grupos desde la recría hasta el primer parto. Se les suministraron dos piensos con igual composición en ingredientes y valor nutritivo (2400 kcal ED/kg, 35 % FND y 16 % PB) pero con diferentes fuentes de grasa. En el pienso AGPI (n=37) se incluyó un 6 % de un suplemento con un 50 % de extracto etéreo, concentrado en AGPI n-3 [13 % DHA (C22:6 n-3), 3 % DAPA (C22:5 n-3), 7 % EPA (C20:5 n-3), 7 % ODTA (C18:4 n-3) y 3 % Linolénico (C18:3 n-3)] (Optomega 50, Optivite, International Ltd., España), a partir de aceite refinado de salmón, y en el pienso C (n=37) se utilizó un 3 % de grasa mezcla de origen animal (sebo y manteca). Las conejas consumieron 130 g/día de pienso durante la recría y dispusieron de pienso ad libitum los diez días previos a la inseminación artificial (IA). A lo largo de las tres primeras semanas de gestación se restringió de nuevo a 130 g/día, y dispusieron de pienso ad libitum durante la última semana de la misma. Se controló el consumo de las conejas en los periodos en los que dispusieron de alimento ad libitum.

Todas las conejas se inseminaron artificialmente el mismo día con una mezcla heterospérmica de semen fresco y para inducirles la ovulación se les aplicó una inyección intramuscular con 20 µg de gonadorelina (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero, España). La IA se realizó a los 4,5 meses de edad con un peso medio de 4062±30,5 g.

El día 28 de gestación (final día 31) se sacrificaron 10 conejas (5 de cada grupo) según RD 53/2013, con el fin de determinar el desarrollo feto-placentario. Se realizó un recuento de cuerpos lúteos y se extrajeron los fetos y las placentas. Tras separar la placenta materna (decidua) de la fetal (laberinto), se pesaron por separado y se midió la longitud, el ancho y el grosor de ambas placentas. En relación a los fetos, se midió la longitud (LON), el diámetro biparietal (DBP), el diámetro torácico (DT) y el diámetro occipito-nasal (DON). Se pesaron los fetos enteros, y después las cabezas y los troncos por separado.

La gestación de las conejas restantes (32 de cada grupo) se llevó a término con el fin de determinar la fertilidad [(número de partos/número de inseminaciones) x100] y la prolificidad (nacidos vivos, muertos y totales).

Para analizar estadísticamente los resultados se utilizó el software SAS (SAS Institute Inc., 2001). Se determinó la correlación (proc corr) de todas las variables placentarias (peso, longitud, anchura y grosor) con respecto a las fetales (LON, DBP, DTC y DON). Después, se analizaron todas las variables continuas (consumo, prolificidad, pesos y medidas de placentas y fetos) mediante un análisis de varianza de una vía (proc glm), considerando el tipo de pienso consumido (C y AGPI) como efecto principal. Para la fertilidad se utilizó una Chi-cuadrado ( $\chi^2$ , proc catmod).

## Resultados y discusión

Las conejas alimentadas con pienso suplementado tendieron a comer 14,19±5,75 g/día (media±eem) menos que el grupo control durante los 10 días previos a la IA (P<0,085). Esta diferencia se vio incrementada en la última semana de gestación, en la que las conejas del grupo AGPI consumieron 178,0±7,19 g/día de pienso, frente a 199,4±7,31 g/día en el grupo control (P<0,041).

En las conejas sacrificadas el día 28 de gestación, no se encontraron diferencias en la tasa de ovulación (13,4±1,15 y 13,0±1,15 cuerpos lúteos; P>0,05) ni en el número total de fetos extraídos (11,0±1,06 y 12,6±1,06) en las conejas AGPI y controles, respectivamente.

La correlación de las variables placentarias con las dimensiones y pesos de los fetos resultó positiva y significativa ( $P < 0,005$ ) para el peso y la longitud en el caso de la placenta materna, y para el peso, la longitud, la anchura y el grosor en el caso de la placenta fetal.

En la Tabla 1 se observan los resultados del efecto del pienso sobre las medidas y pesos fetales.

**Tabla 1. Medidas y pesos de los fetos de conejas (n=5) en día 28 de gestación, alimentadas con un pienso control o enriquecido con ácidos grasos n-3 (AGPI).**

	Pienso Control	RMS AGPI	P>f	
<b>Nº de fetos</b>	63	55		
<b>Dimensiones (mm)</b>				
<b>LON</b>	89,42	96,83	1,029	***
<b>DBP</b>	17,60	18,02	0,165	†
<b>DT</b>	17,70	18,51	0,245	*
<b>DON</b>	27,85	27,59	0,286	n.s.
<b>Peso (g)</b>				
<b>Feto entero</b>	35,87	37,40	0,906	n.s.
<b>Cabeza</b>	9,08	9,68	0,181	*
<b>Cuerpo</b>	26,11	27,11	0,706	n.s.

LON: longitud. DBP: diámetro biparietal. DT: diámetro torácico. DON: diámetro occipito-nasal. RSM: cuadrado medio del error. n.s.: no significativo, †:  $p < 0,1$ ; \*:  $p < 0,05$ ; \*\*\*:  $p < 0,001$ .

Los fetos de las conejas alimentadas con AGPI presentaron medidas significativamente mayores de LON ( $P < 0,001$ ) y DTC ( $P < 0,05$ ) y tendieron a un DBP también más grande ( $P < 0,079$ ) que explicaría, a su vez, un mayor peso de la cabeza ( $P < 0,05$ ) con respecto al grupo control. En estudios llevados a cabo previamente (Arias-Álvarez et al., 2014) con niveles más bajos de AGPI n-3 (7,5 g/kg) no se observaron diferencias tan significativas en el desarrollo feto-placentario. Por tanto, se puede decir que aumentando los niveles de inclusión de este suplemento en el pienso y el periodo en el que lo consumen, sí se observan efectos positivos en el desarrollo fetal a 28 días de gestación.

En la Tabla 2 se muestran los resultados placentarios. El grosor de la placenta fetal y materna fue significativamente mayor en el grupo suplementado. La zona del laberinto (placenta fetal) es la que presenta una mayor vascularización, favoreciendo de este modo el intercambio de nutrientes entre la madre y el feto (Argente et al., 2003). Como se ha mencionado previamente en las correlaciones de las variables, el grosor de la placenta fetal está altamente relacionado con las dimensiones fetales ( $P < 0,005$ ), por lo que estos resultados placentarios explicarían el mayor desarrollo dimensional de los fetos (LON, DBP, DT) en el grupo AGPI. El grupo suplementado tiende a un mejor ratio peso feto:peso placenta fetal, una mayor eficiencia de la misma ( $P < 0,1$ ) y, por lo tanto, se justifica lo descrito previamente. Nuestros resultados coinciden con los descritos en ratas por otros autores (Jones et al., 2013) quienes concluyeron que la suplementación con AGPI en gestación incrementa el crecimiento fetal y placentario. Estudios llevados a cabo por Rooke et al. (2001) observaron que la suplementación con aceite de pescado en cerdas gestantes en el último tercio de la gestación maximiza el contenido de DHA de la retina, hígado y cerebro, y este enriquecimiento se puede traducir en una mayor vitalidad, por lo que nuestros estudios continúan por esta vía de investigación.

**Tabla 2. Pesos y medidas de las placentas en día 28 de gestación de conejas (n=5) alimentadas con un pienso control o enriquecido con ácidos grasos n-3 (AGPI).**

	Pienso		RMS	P>f
	Control	AGPI		
Nº de fetos	63	55		
Peso placenta entera (g)	4,96	5,18	0,136	n.s.
Placenta fetal				
Peso (g)	3,43	3,43	0,105	n.s.
Largo (mm)	34,37	33,42	0,291	n.s.
Ancho (mm)	26,07	25,62	0,454	n.s.
Grosor (mm)	3,21	4,60	0,185	***
Placenta materna				
Peso (g)	1,37	1,56	0,043	*
Largo (mm)	36,41	36,32	0,624	n.s.
Ancho (mm)	15,17	14,93	0,317	n.s.
Grosor (mm)	2,712	3,61	0,104	***
Ratio peso feto:peso placenta fetal	10,62	11,16	0,216	†
Ratio peso feto:peso placenta materna	26,84	24,90	0,666	*

RSM: cuadrado medio del error. n.s.: no significativo, †: p<0.1; \*: p< 0,05; \*\*\*: p<0,001.

En la Tabla 3 se muestran los resultados productivos de las conejas gestantes a término. No hubo diferencias en cuanto a la fertilidad que fue alta en todos los grupos ya que son nulíparas. Las conejas suplementadas tuvieron más nacidos vivos y menos muertos (P<0,05) que las controles confirmando resultados previos (Rebollar et al., 2014). Dado que a día 28 de gestación no encontramos diferencias en el número de fetos extraídos del tracto reproductor, las diferencias en la prolificidad observadas a parto podrían deberse a la mayor viabilidad de las crías de las madres alimentadas con AGPI, tal y como describieron Rooke et al. (2001), en cerdos.

**Tabla 3. Parámetros productivos de fertilidad y prolificidad de conejas alimentadas con una dieta control o con una dieta enriquecida con ácidos grasos n-3 (AGPI).**

	Pienso		RMS	P>f
	Control	AGPI		
n	32	32		
Fertilidad (%)	81,25	87,50	4,522	n.s.
Prolificidad				
Nacidos vivos	10,44	10,78	0,108	*
Nacidos muertos	0,48	0,15	0,106	*
Nacidos totales	10,50	11,31	0,428	n.s.

RSM: cuadrado medio del error. n.s.: no significativo, \*: p< 0,05.

En conclusión, la inclusión en el pienso de un 6 % de un suplemento concentrado en AGPI n-3 a partir de aceite refinado de salmón no afectó a la tasa de ovulación ni al número de fetos de las conejas a 28 días de gestación. El menor consumo del grupo AGPI durante la recría y la gestación no sólo no tuvo repercusiones negativas sobre el desarrollo feto-placentario a 28 días de gestación, sino que se han obtenido dimensiones mayores de los fetos en este punto. Además, tras la suplementa-

ción también se han observado mejoras en la prolificidad en las conejas cuya gestación se llevó a término, ya que el grupo AGPI parió más gazapos vivos y menos muertos que el grupo control.

## Agradecimientos

---

Financiado por el Proyecto AGL2011-23822 y la C.M. (S2013/ABI-2913).

## Bibliografía

---

Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2003. Relationships between uterine and fetal traits in rabbits selected on uterine capacity. *Journal of Animal Science*, 81:1265-1273.

Arias-Álvarez M., Arrivas S., García-García R.M., Millán P., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., Lorenzo P.L., Rebollar P.G. 2014. Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) on endocrine response and fetoplacental development in rabbit. En: *Epigenetics and Periconception Environment*. Vilamoura, Portugal, p. 16.

Jones M.L., Mark P.J., Mori T.A., Keelan J.A., Waddell B.J. 2013. Maternal Dietary Omega-3 Fatty Acid Supplementation Reduces Placental Oxidative Stress and Increases Fetal and Placental Growth in the Rat. *Biology of Reprod.*, 37:1-8.

Rebollar P.G., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Millán P., Rey A.I., Rodríguez M., Formoso-Rafferty N., De la Riva S, Masdeu M., Lorenzo P.L, García-Rebollar P. 2014 Reproductive long-term effects, endocrine response and fatty acid profile of rabbit does fed diets supplemented with n-3 fatty acids. *Animal Reproduction Science*, 146:202-209.

Rodríguez M., Valiente V., Formoso-Rafferty N., Masdeu M., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Lorenzo P.L., Rebollar P.G. 2014. Respuesta reproductiva de conejas alimentadas con dietas enriquecidas con aceite de salmón. En: *XXXIX Symposium de Cunicultura de ASESCU*. Tudela, España, pp. 99-102.

Rooke J. A., Sinclair A. G., Ewen M. 2001. Changes in piglet composition at birth in response to increasing maternal intake of long chain n-3 polyunsaturated fatty acids are nonlinear. *British Journal of Nutrition*, 86:461-470.

SAS Institute. 2001. *SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2)*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.