

# Indicadores metabólicos y de estrés tras el ajuste de consumo en conejas primíparas gestantes

*Metabolic and stress indicators after feed intake adjustment in primiparous pregnant rabbit does*

Fernández-Pacheco C.<sup>1</sup>, Millán P.<sup>1</sup>, Rodríguez M.<sup>2</sup>, García-García R.M.<sup>1</sup>, Sánchez-Rodríguez A.<sup>1</sup>, Arias-Álvarez M.<sup>2</sup>, Lorenzo P.L.<sup>1</sup>, Rebollos P.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. Fisiología Animal, Facultad de Veterinaria Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, España

<sup>2</sup> Dept. Producción Animal, Facultad de Veterinaria Universidad Complutense de Madrid, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040, Madrid, España

<sup>3</sup> Dept. Producción Agraria, ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Av. Puerta de Hierro 2, 28040 Madrid, España

\*Dirección de contacto: calpmartorell@ucm.es

## RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue determinar si aplicando un ajuste en el consumo de alimento durante la gestación en conejas primíparas, se ven afectados indicadores metabólicos y de estrés. Para ello, se utilizaron conejas primíparas, inseminadas después del destete que se dividieron en 4 grupos: Control (consumo *ad libitum* toda la gestación, n=30), y restringidas al 60% de su consumo voluntario (105g/d) la primera semana (R07; n=31), la segunda y la tercera semana (R721; n=31) y las 3 primeras semanas (R021; n=30) de la gestación. En la cuarta y última semana de gestación todas disponían de pienso *ad libitum*. Se tomaron muestras de sangre el día de la inseminación y tras el diagnóstico de gestación, se muestrearon animales gestantes de los 4 grupos en 3 puntos de la gestación: el día 14 (n=20), 21 (n=20) y 28 (n=20). Tras el parto, las hembras se re-inseminaron el día 14 post-parto y se tomaron muestras en otros 3 puntos de la lactación: día 7 (n=13), día 14 (n=13) y día 30 (n=41). En estas muestras se analizaron mediante enzimo-inmunoanálisis: tri-iodotironina y tiroxina libres, y corticosterona. El ajuste del consumo de alimento durante la gestación aplicado en conejas primíparas afectó levemente a la homeostasis energética de los animales pero su estado de bienestar no se vio comprometido.

**Palabras clave:** conejas, restricción, estrés, metabolismo.

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine if a food intake adjustment (105g/day) during gestation applied to primiparous rabbit does would affect their metabolic and stress parameters. The rabbit does were divided into 4 different groups according to the duration of the food intake adjustment: mothers were fed *ad libitum* during all pregnancy (control group, n=30), mothers were fed up to 60% of their voluntary intake during the first week of pregnancy (group R07, n=31), during the second and third weeks of pregnancy (group R721, n=31) or during the first three weeks of pregnancy (group R021, n=30). On the fourth week of pregnancy all groups were fed *ad libitum*. Blood samples were taken on the day of insemination and, after the diagnosis of pregnancy, pregnant animals of the 4 groups were sampled at 3 gestation points: day 14 (n=20), 21 (n=20) and 28 (n=20). After parturition, the females were re-inseminated on the 14th post-partum day and samples were taken at another 3 points of lactation: day 7 (n=13), day 14 (n=13) and day 30 (n=41). Free tri-iodothyronine (T3) and thyroxine (T4), and corticosterone were analysed by enzyme immunoassay. The adjustment of feed intake during pregnancy applied in primiparous rabbits slightly affected the energy homeostasis of the animals but their welfare status was not compromised.

**Keywords:** rabbit doe, feed adjustment, stress, metabolism.

### INTRODUCCIÓN

Las conejas reproductoras suelen estar gestantes y lactantes a la vez a lo largo de su periodo productivo y suelen disponer de pienso *ad libitum*. En el caso de las primíparas, se pueden inseminar tras el destete para que puedan recuperar reservas antes de una segunda inseminación artificial (IA). A pesar de todo, como las primíparas tienen problemas de fertilidad, la disponibilidad de alimento sin límites cuando no están preñadas suele aumentar sus depósitos grasos (Rommers *et al.*, 2004; Manal *et al.*, 2010). Esto conlleva un riesgo grave de engrasamiento, así como más fallos en fertilidad y, finalmente, una reducción de su longevidad, ya que las conejas reproductoras suelen ser eliminadas tras 2-3 inseminaciones negativas. La eliminación de hembras jóvenes por problemas de fertilidad va en detrimento del bienestar animal y supone pérdidas económicas ya que para compensar la eliminación de estos animales se debe aumentar la tasa de reposición. Estos animales eliminados, a su vez, no pueden ser aprovechados para el consumo humano por su edad y su tamaño, por lo que el ganadero no puede obtener un beneficio compensatorio. Por ello, una buena estrategia se podría basar en dirigir los esfuerzos hacia la alimentación de primíparas, buscando una calidad y cantidad óptimas que aseguren la cobertura total de las necesidades metabólicas y fisiológicas de los animales sin sobrepasarlas ni reducirlas en exceso, evitando así el engrasamiento que conduce a su eliminación del sistema productivo o a posibles efectos negativos a nivel metabólico. Además, el bienestar animal y la creciente concienciación social en torno a él, demanda que los animales sometidos a este tipo de ajustes en la alimentación se encuentren en adecuadas condiciones de alojamiento e higiene y que los animales tengan unos niveles de estrés mínimos.

En trabajos previos hemos observado que las conejas primíparas sometidas a una restricción de alimento en diferentes periodos de la gestación, experimentan un incremento del consumo tras el periodo en el que se aplica el ajuste de alimento, que podría compensar el posible déficit de nutrientes ocasionado previamente (Rodríguez *et al.*, 2017). También hemos mostrado que con esta estrategia no existe detrimento alguno en sus parámetros de fertilidad y prolificidad, ni en ningún otro parámetro productivo (Rodríguez *et al.*, 2018). En esta ocasión, el objetivo de este estudio ha sido determinar si la aplicación de un ajuste en el consumo de alimento durante la gestación en conejas primíparas, puede afectar a algunos de sus indicadores metabólicos (hormonas tiroideas) y de estrés (corticosterona).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han empleado conejas (*Oryctolagus cuniculus*) híbridas California × NZW (Neozelandés Blanco) que se alimentaron con un pienso comercial de 2400 kcal de ED/kg, 35% FND y 16% PB (NANTA, S.A. Madrid). A lo largo de la primera gestación de estos animales, se hizo un control de la ingestión voluntaria de alimento, que se estableció en una media de 175 g/día por individuo. Se inseminaron artificialmente después del destete (30 dpp) de su primera camada con un pool de semen heterospérmico de machos de la propia explotación y empleando un análogo comercial de GnRH (Inducel GnRH 20µg, Lab. Ovejero S.A., León) por vía intramuscular para inducir la ovulación. Durante esta segunda gestación, se aplicó a los animales un ajuste del consumo diario de alimento del 60% de la ración (105 g/día), dividiéndose en 4 grupos experimentales atendiendo a la duración y periodo de gestación en que se aplicó el ajuste de consumo:

- Grupo control (n=30) alimentado *ad libitum* durante toda la gestación.
- Grupo R07 (n=31) con el ajuste de consumo durante la primera semana de gestación.
- Grupo R721 (n=31) con el ajuste de consumo en la segunda y tercera semana de gestación.
- Grupo R021 (n=31) con el ajuste de consumo durante las tres primeras semanas de gestación.

En la cuarta y última semana de gestación, todos los grupos recibieron alimentación *ad libitum*.

El día de la IA (día 0) se tomó una muestra inicial de sangre (de la arteria central de la oreja) de 10 animales elegidos al azar. Posteriormente, se muestrearon al azar 5-9 animales gestantes confirmados por palpación de cada grupo experimental en 3 puntos de la gestación: día 14 (n=20), día 21 (n=20) y día 28 (n=20); y tras el parto, en otros 3 puntos de la lactación: 7 dpp (n=13), 14 dpp (n=13) y 30 dpp (n=41). En este último punto de muestreo que correspondió con el destete, se tomaron muestras de hembras que no habían quedado gestantes (n=22) en la tercera IA (realizada el día 14 post-parto), para compararlas con las hembras gestantes (n=19). En todas las muestras se analizaron mediante enzimo-inmunoanálisis los niveles de tri-iodotironina (T3) libre (Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel, Alemania), tiroxina (T4) libre (Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel, Alemania), Insulina (Mercodia AB, Uppsala, Suecia) y corticosterona (Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel, Alemania).

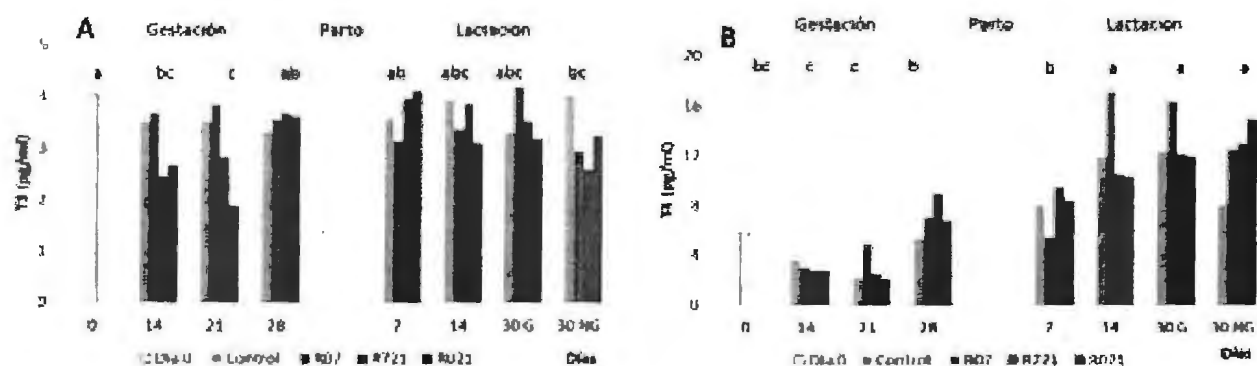
Para el análisis estadístico de los resultados se realizó un análisis de varianza (SAS Institute, 2001), considerando como efectos principales el tratamiento (ajuste de consumo), el tiempo (días 14, 21 y 28 de gestación,

días 7, 14 y 30 de lactación), y la interacción entre ambos. Posteriormente, las medias se compararon con una *t* de Student, considerando la existencia de diferencias significativas para un valor de *P* menor de 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

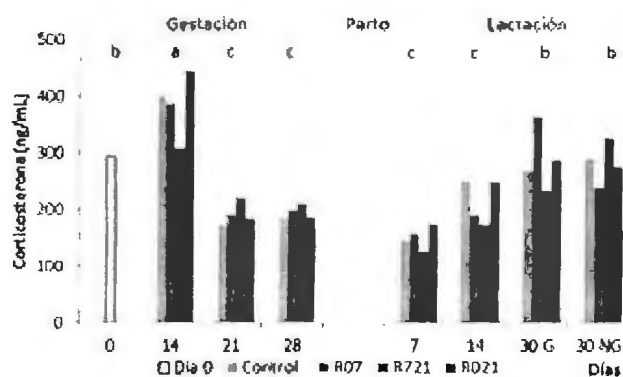
La interacción de los dos efectos estudiados (el tiempo y el tratamiento) sobre las hormonas tiroideas se muestra en las figuras 1A y 1B. Las hormonas tiroideas son hormonas clave en la regulación del metabolismo y en la adaptación al ayuno: contribuyen a la termogénesis tanto obligatoria como adaptativa, regulando el apetito y el gasto energético. Solo el día en el que se tomó la muestra influyó en las concentraciones plasmáticas de las hormonas T3 ( $P=0,0308$ ) y T4 ( $P<0,0001$ ), observándose cierto descenso de la actividad tiroidea en gestación comparado con la que se determinó en lactación.

El ajuste de alimento aplicado no afectó significativamente a la T3 ( $P=0,117$ ) ni a la T4 ( $P=0,4950$ ). No obstante, se observó que las conejas de los grupos R721 y R021 tendieron a presentar concentraciones plasmáticas de T3 más bajas que los otros dos grupos los días 14 y 21 de gestación ( $P=0,798$ ). Esto puede ser debido a que el eje tiroideo de estas conejas se adaptó al ahorro fisiológico de energía, ya que en ese momento el consumo de alimento al que estaban sometidas era más bajo que en los otros dos grupos (Rodríguez *et al.*, 2018), y por eso, la T3 libre disminuiría en las conejas R721 y R021 en la 2ª y la 3ª semana de gestación. La disminución de T3 libre durante los períodos de restricción reduce la tasa metabólica basal, lo que resulta en un ahorro de energía para los animales (Menchetti *et al.*, 2015). En la 4ª semana y durante la lactación, cuando todos los grupos ya disponían de alimento *ad libitum*, las concentraciones de las hormonas tiroideas se equilibraron e incluso, en el caso de la T4, se elevaron significativamente con respecto a las que se obtuvieron durante la gestación.



**Figura 1.** A: Concentraciones plasmáticas de tri-iodotironina (T3) B: Concentraciones plasmáticas de tiroxina (T4), en conejas sometidas a un ajuste de alimentación durante una (R07), dos (R721) o tres semanas (R021) de la gestación. (G: gestantes; NG: No gestantes). a, b, c: diferentes letras representan diferencias significativas (T3:  $P<0,0308$ ; T4:  $P<0,001$ ) entre los días en los que se tomaron las muestras.

Las concentraciones de corticosterona como indicadores de estrés tampoco se vieron afectadas por el tratamiento ( $P=0,3678$ ; Figura 2). Este mismo resultado se obtuvo en un estudio similar, pero en el que los niveles de restricción fueron 90 g/día y determinaron cortisol (Menchetti *et al.*, 2015).



**Figura 2.** Concentraciones plasmáticas de Corticosterona en conejas sometidas a un ajuste de alimentación durante una (R07), dos (R721) o tres semanas (R021) de la gestación. (G: gestantes; NG: No gestantes). a, b, c: diferentes letras representan diferencias significativas ( $P<0,001$ ) entre los días en los que se tomaron las muestras.

Sin embargo, hemos observado que durante algún periodo del estudio las conejas pudieron presentar cierto nivel de estrés, ya que este indicador aumentó significativamente el día 14 de gestación ( $P < 0,0001$ ), que coincidió con el día en el que se confirmó la gestación mediante palpación abdominal. El aumento de los niveles plasmáticos de esta hormona se pudo corresponder, por tanto, con momentos de mayor estrés para los animales relacionados con el manejo, pero no con el ajuste de consumo.

En conclusión, podemos decir que el ajuste del consumo de alimento durante la gestación aplicado en conejas primíparas, afectó ligeramente a los niveles de T3 y T4 libres durante la gestación que se adaptaron al moderado déficit de alimento aplicado. Además, su estado de bienestar medido mediante las concentraciones plasmáticas de corticosterona no se vio afectado. Por tanto, consideramos que esta estrategia podría ser aplicada para reducir costes de alimentación sin que se vean indicios en el animal de alteraciones metabólicas o de estrés.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2015 65572-C2-1-R.

### BIBLIOGRAFÍA

- Manal A.F., Tony M.A., Ezzo O.H. 2010. Feed restriction of pregnant nulliparous rabbit does: consequences on reproductive performance and maternal behaviour. *Anim. Reprod. Sci.*, 120: 179-186.
- Menchetti L., Brecchia G., Canali C., Cardinali R., Polisca A., Zerani M., Boiti C. 2015. Food restriction during pregnancy in rabbits: Effects on hormones and metabolites involved in energy homeostasis and metabolic programming. *Research in Veterinary Science*, 98: 7-12.
- Rodríguez M., Arias-Álvarez M., Formoso-Rafferty N., Velasco B., Sánchez A., Lorenzo P.L., García-García R.M., Rebollar P.G. 2017. Consequences of food restriction during pregnancy of rabbit does on fetoplacental growth. *World Rabbit Sci.*, 25: 289.
- Rodríguez M., Velasco B., García-García R.M., Arias-Álvarez M., Lorenzo P.L., Rebollar P.G. 2018. Parámetros productivos y de crecimiento de los gazapos de conejas primíparas tras reducir su consumo de pienso durante la gestación. 43 *Symposium de Cunicultura. Calamocha*, pp. 138-143.
- Rommers J.M., Meijerhof R., Noordhuizen J.P.T.M., Kemp B. 2004. The effect of level of feeding in early gestation on reproductive success in young rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.*, 81: 151-158.
- SAS Institute. 2001. *SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2)*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.