

## **EFFECTO DEL ESTÍMULO FÍSICO DE LA CÁNULA DE INSEMINACIÓN SOBRE LA INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN CONEJA**

Viudes de Castro, M.P.<sup>1</sup>, Casares-Crespo, L.<sup>1</sup>, Marco-Jiménez, F.<sup>2</sup> y Vicente, J.S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Segorbe (Castellón). <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia  
viudes\_mar@gva.es

### **INTRODUCCIÓN**

El principal mecanismo responsable de la inducción de la ovulación en las especies de ovulación inducida implica una respuesta neuroendocrina a los estímulos genitales que se producen durante el apareamiento (Bakker y Baum, 2000). Dichas especies se pueden dividir en tres grandes categorías en función del estímulo coital requerido (Kauffman y Rissman, 2006), clasificándose los conejos en el grupo de requisitos mínimos, ya que la estimulación coital es por lo general muy rápida, con una duración de menos de un minuto o incluso segundos (Contreras y Beyer, 1979 Beyer et al., 1980). En el caso de los camélidos, pertenecientes a la categoría de requisitos máximos, la copulación se prolonga de 30 a 50 minutos (Bravo et al., 1990) y se ha observado que la ovulación es inducida por una proteína de 14 kDa, el factor de crecimiento nervioso ( $\beta$ -NGF), presente en el plasma seminal. Aunque esta proteína está presente también en el plasma seminal de conejo, no se han encontrado pruebas que apoyen la hipótesis de que su plasma seminal provoque un aumento de la liberación de LH ni de que estimule la ovulación en conejos (Silva et al., 2011). Es posible que los conejos sean más sensibles a los estímulos físicos, ya que se requiere necesariamente una estimulación genital adecuada u otros estímulos relacionados con el apareamiento para que la ovulación sea inducida, existiendo distintas situaciones en las que un porcentaje de hembras ovulan sin haber sido montadas por un macho, como en el caso de la monta de una hembra en celo por otra hembra (pseudomonta) en conejas alojadas en grupo (Staples, 1967; Rommers et al., 2006) o hembras que ovulan sin que se apliquen análogos de la GnRH, como en el caso de la introducción de la cánula de inseminación únicamente con diluyente (Viudes de Castro et al., 2007). Lo que concuerda con los resultados obtenidos por Rebollar et al. (2012) con hembras a las que se les bloqueó el estímulo nervioso mediante anestesia epidural, observando que en ausencia de estímulo vaginal no se desencadenaba la ovulación, lo que viene a recalcar la importancia de la estimulación física en esta especie. De ahí que el objetivo del presente trabajo sea determinar cómo afecta el tipo de cánula utilizada en la inducción de la ovulación y si la estimulación que supone la introducción de la cánula comercial de inseminación y el manejo de la hembra al aplicar la dosis de semen con los dos tipos de cánulas existentes en el mercado puede afectar a los resultados de fertilidad.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron hembras de origen neozelandés blanco (línea A) y machos de aptitud cárnica (línea sintética R) alojados en la granja experimental del Centro de Investigación y Tecnología Animal de Segorbe (CITA-IVIA, Castellón, España). Las hembras receptivas se asignaron aleatoriamente a los grupos experimentales. Se emplearon dos cánulas de inseminación que se comercializan para conejo: cánula de 15,5 cm, recta y de material deformable (cánula corta flexible) y cánula de 23,5 cm, acodada 15° a 4 cm del extremo y de material rígido (cánula larga rígida). En el primer experimento se establecieron dos grupos (cánula corta o larga) y se procedió a inseminar a las hembras únicamente con diluyente, las cuales fueron sometidas a una laparoscopia a los diez días de la inseminación para determinar la presencia de cuerpos lúteos funcionales (tasa de ovulación). En el segundo experimento se establecieron tres grupos experimentales: control (hembras inseminadas con cánulas largas y 0,5mL de semen diluido que recibían una inyección intramuscular de 1  $\mu$ g de acetato de buserelina en el momento de la inseminación para inducir la ovulación), cánula corta (hembras inseminadas con cánulas cortas y 0,5mL de semen diluido que contenía 5  $\mu$ g de de acetato de buserelina) y cánula larga (hembras inseminadas con cánulas largas y 0,5mL de semen diluido que contenía 5  $\mu$ g de de acetato de buserelina). Se registraron los datos de fertilidad y tamaño de camada al parto. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2002). El efecto

del tipo de cánula sobre la inducción de la ovulación y sobre la fertilidad al parto se llevaron a cabo mediante un análisis probit link con distribución binomial del error. Mientras que la tasa de ovulación y el tamaño de la camada fueron analizados mediante un análisis de varianza. Los datos se muestran como medias mínimo cuadráticas con su error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el primer experimento (Tabla 1) muestran que la inducción de la ovulación sobre hembras receptivas fue significativamente mayor cuando se utilizó la cánula corta frente a la cánula larga ( $0,64 \pm 0,080$  versus  $0,30 \pm 0,068$ , respectivamente). Lo que demuestra que la cánula corta de inseminación consigue reproducir más fielmente el estímulo nervioso provocado por la monta del macho. En lo que se refiere a los resultados de tasa de ovulación, ésta no se vio afectada por el tipo de cánula utilizada, no observándose diferencias significativas entre ambos grupos. Los resultados de inducción de ovulación con la cánula larga coinciden con los previamente obtenidos por nuestro grupo (Viudes de Castro et al., 2007) cuando un 32,5% de hembras fueron inducidas a ovular por la mera introducción de la cánula larga de inseminación con diluyente. Los resultados obtenidos en el segundo experimento (Tabla 2) no mostraron diferencias significativas de fertilidad al parto ni de prolificidad entre ambos tipos de cánulas y el grupo control, lo que indicaría que una concentración de 5 µg del análogo de GnRH en la dosis de inseminación es suficiente para enmascarar el efecto del tipo de cánula empleado. Estos resultados coinciden con los resultados de Kalaba y Abdel-Khalek (2011) con hembras conducidas por monta natural, los cuales observaron que la fertilidad al parto aumentaba tanto en las hembras que previamente a la monta habían recibido un estímulo mecánico en la vagina como en las que habían recibido una inyección de GnRH. Lo que pone de manifiesto que la utilización de análogos de la GnRH contrarrestaría la posible ventaja en inducción de ovulación que confiere la estimulación vaginal provocada por la utilización de la cánula corta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakker, J., Baum, M.J., 2000. Neuroendocrine regulation of GnRH release in induced ovulators. *Front. Neuroendocrinol.* 21:220–262.
- Kauffman, A.S., Rissman, E.F., 2006. Neuroendocrine control of mating-induced ovulation. En: *Physiology of Reproduction*. 3rd ed. Elsevier Academic Press, St-Louis, MO, USA, pp. 2283-2326.
- Contreras, J.L., Beyer, C., 1979. A polygraphic analysis of mounting and ejaculation in the New Zealand white rabbit. *Physiol. Behav.* 23:939-943.
- Beyer, C., Velasquez, J., Larsson, K., Contreras, J.L., 1980. Androgen regulation of the motor copulatory pattern in the male New Zealand white rabbit. *Horm. Behav.* 14:179–190.
- Bravo, P.W., Fowler, M.E., Stabenfeldt, G.H., Lasley, B.L., 1990. Endocrine responses in the llama to copulation. *Theriogenology* 33:891–899.
- Silva et al., 2011. Is an ovulation-inducing factor (OIF) present in the seminal plasma of rabbits? *Animal Reproduction Science*, 127(3–4):213–221.
- Staples, R.E., 1967. Behavioural induction of ovulation in the oestrous rabbit. *J. Reprod. Fert.* 13:429-435.
- Rommers, J.M., Boiti, C., de Jons, I., Brecchia, G., 2006. Performance and behaviour of rabbit does in a group-housing system with natural mating or artificial insemination. *Reprod. Nutr. Dev.* 46:677–687.
- Viudes de Castro M.P., Lavara R., Marco-Jiménez F., Cortell C., Vicente J.S., 2007. Ovulation induced by mucosal vaginal absorption of buserelin and triptorelin in rabbit. *Theriogenology* 68(7):1031-1036.
- Rebollar P.G., Dal Bosco A., Millán P., Cardinali R., Brecchia G., Syllad L., Lorenzo P.L., Castellini C., 2012. Ovulating induction methods in rabbit does: The pituitary and ovarian responses. *Theriogenology*; 77:292-298.
- Kalaba Z.M., Abdel-Khalek A.E., 2011. Effect of repeated GnRH injection and intra-vaginal mechanical stimulation on reproductive performance of doe rabbits. *Asian J Anim Vet Adv*; 6(10):1010-1018.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto RTA2013-00058-00-00 del INIA. L. Casares-Crespo ha sido financiada por una beca de formación del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) y el Fondo Social Europeo.

**Tabla 1.** Efecto del tipo de cánula sobre la inducción de la ovulación y la tasa de ovulación (medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media).

Tipo de cánula	Nº hembras	Inducción ovulación	Tasa de ovulación
Corta flexible	35	0,64 $\pm$ 0,080 <sup>a</sup>	11,0 $\pm$ 0,58
Larga rígida	46	0,30 $\pm$ 0,068 <sup>b</sup>	11,8 $\pm$ 0,76

a,b: valores con diferente superíndice en la misma columna difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efecto del tipo de cánula sobre la fertilidad y el tamaño de camada (medias mínimo cuadráticas  $\pm$  error estándar de la media).

Tratamiento	Nº hembras	Fertilidad al parto	Nacidos Totales
Control	46	0,83 $\pm$ 0,056	8,5 $\pm$ 0,50
Corta flexible	92	0,75 $\pm$ 0,045	9,2 $\pm$ 0,68
Larga rígida	98	0,72 $\pm$ 0,046	9,2 $\pm$ 0,80
Total	246	0,77 $\pm$ 0,030	9,1 $\pm$ 0,46

#### PHYSICAL EFFECT OF INSEMINATION CANNULA ON OVULATION INDUCTION IN RABBIT DOE

**ABSTRACT:** In induced ovulating does, the main factor responsible for ovulation induction is the genital somatosensory stimuli during the copulation. In camelids, ovulation induction requires multiple ejaculatory series and the seminal plasma contains a protein, the  $\beta$ -NGF, with a potent ovulatory effect. Although this protein has been identified in seminal plasma of rabbit, the physical stimulation of the genital tract during the artificial insemination seems to be the main factor in the induction of ovulation because the rabbit doe requires minimal copulatory stimulation and ovulation can be induced rapidly. The aim of this work was to study the physical stimulation of both types of insemination cannula (short and flexible compared to long and rigid), on ovulation induction and reproductive performance in rabbit doe. The results obtained in this study demonstrate that the type of insemination cannula used affects the ovulation induction of the female. The short cannula obtained significantly higher ovulation induction ( $0.64 \pm 0.080$ ) than the long one ( $0.30 \pm 0.068$ ), so it seems that the first mimics better the stimulation associated with the mating of the male to provoke the ovulation induction. However, when does are inseminated with these two types of cannulas containing the hormone in the semen extender, no differences in fertility nor prolificacy are found between them. This could be due to the use of the analog of GnRH in insemination which masks the effect of the type of cannula used.

**Keywords:** ovulation induction, insemination cannula, rabbit.