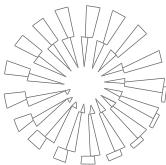


## Características morfométricas de los órganos genitales de conejas Nueva Zelanda con distintos pesos corporales en el periodo de transición peripuberal



## Morphometric characteristics of female reproductive organs of New Zealand rabbits with different body weight in peripuberal period of transition

Jesús Aragón Hernández\* Juan Suárez Sánchez\*\* Mario Pérez-Martínez\*\*\*

### Abstract

Morphometric characteristics were determined from female reproductive organs of New Zealand rabbits with different body weight in order to understand the anatomical changes of the various organs of the reproductive tract of this breed in the peripuberal period of transition. Four groups were formed according to a percentage of adult weight (AW), Group A with  $2 \pm 0.1$  kg (40% of AW), Group B with  $3 \pm 0.1$  kg (60% of AW), Group C with  $3.5 \pm 0.1$  kg (70% of AW) and Group D with  $4 \pm 0.1$  kg (80% of AW). The rabbits were euthanized according to the required weight for each group and ovaries, uterine horns, cervix and vagina were removed, in order to measure their length. Ovarian tissue fragments were obtained and processed by paraffin embedding for histological analysis using Masson's trichrome stain. Primordial, primary, secondary and tertiary follicles were counted in the ovarian cortex and medulla. Regarding the length of the left and right ovary there were differences between Group A with respect to B, C and D ( $P < 0.05$ ). Regarding the length of the uterine horns there were differences between Group A with respect to groups B, C and D in both horns ( $P < 0.05$ ). Regarding the length of the cervix there was difference between Group B and the others ( $P < 0.05$ ) and the vagina showed difference between Group A and the other groups ( $P < 0.05$ ). With respect to the variable number of primordial follicles there was difference between Group A and the other groups ( $P < 0.05$ ). For primary and secondary follicles there were no differences between the four groups ( $P > 0.05$ ). In tertiary follicles there were differences between Group A and the others ( $P < 0.05$ ). Based on the results of this study it is concluded that in New Zealand rabbits the histological and morphometric changes of the reproductive tract associated with body weight, are more dramatic in the transition range from 40% to 60% (groups A and B) of AW, hence, it is a critical period in the maturation of the female reproductive system.

**Key words:** RABBIT, MORPHOLOGY, FEMALE REPRODUCTIVE ORGANS, BODY WEIGHT, PUBERTY.

### Resumen

Se determinaron las características morfométricas de los órganos genitales de conejas de la raza Nueva Zelanda con distintos pesos corporales en el periodo de transición peripuberal. Se formaron cuatro grupos de acuerdo con un porcentaje del peso adulto (PA); Grupo A con  $2 \pm 0.1$  kg (40% del PA); Grupo B con  $3 \pm 0.1$  kg (60% del PA); Grupo C con  $3.5 \pm 0.1$  kg (70% del PA) y Grupo D con  $4 \pm 0.1$  kg (80% del PA). A las conejas se les sometió a eutanasia de acuerdo con el peso requerido para cada grupo. Se removieron ambos ovarios, cuernos uterinos, cérvix y vagina con el fin de medir su longitud. Se obtuvieron fragmentos de tejido ovárico que se procesaron por inclusión en parafina para efectuar cortes histológicos que se tiñeron con tricrómica de Masson. Se contaron los folículos primordiales, primarios, secundarios y terciarios presentes en la corteza y médula ovárica. Respecto de la longitud de los ovarios derecho e izquierdo, se encontraron diferencias entre el Grupo A y los grupos B, C y D ( $P < 0.05$ ). En cuanto a la longitud de los cuernos uterinos, se encontraron diferencias entre el Grupo A y los grupos B, C y D, en ambos cuernos ( $P < 0.05$ ). En relación con la longitud del cérvix, hubo diferencia entre el Grupo A y los

Recibido el 6 de noviembre de 2009 y aceptado el 2 de junio de 2010.

\*Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Agrobiología, Universidad Autónoma de Tlaxcala, 90500, Ex- Hacienda San Diego Xalpatlahuaya, Huamantla, Tlaxcala, México.

\*\*Licenciatura en Biología, Facultad de Agrobiología, 90000, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

\*\*\*Departamento de Morfología, Laboratorio de Investigación en Biología Tisular de la Reproducción, "Rosa Emilia Lavielle", Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D. F.

Correspondencia: Jesús Aragón Hernández: Correo electrónico: aragonhdezj@yahoo.com.mx Tel.: (246) 4 62 41 43 y Mario Pérez Martínez Correo electrónico: perezmtzmario@yahoo.com.mx Tel.: (55) 56 22 58 93.

demás grupos ( $P < 0.05$ ); en la vagina se encontró diferencia entre el Grupo A y el resto de los grupos ( $P < 0.05$ ). Acerca del número de folículos primordiales, hubo diferencia entre el Grupo A y los otros grupos ( $P < 0.05$ ). Para los folículos primarios y secundarios no se encontraron diferencias entre los cuatro grupos ( $P > 0.05$ ). En los folículos terciarios hubo diferencias entre el Grupo A y los demás grupos ( $P < 0.05$ ). Con base en los resultados obtenidos se concluye que en la coneja Nueva Zelanda los cambios histológicos y morfométricos de los órganos genitales asociados con el peso corporal, son más drásticos en el rango de transición de 40% al 60% (grupos A y B) del PA. Se concluye que se trata de un periodo crítico en el proceso de maduración del aparato reproductor femenino.

**Palabras clave:** CONEJO, MORFOLOGÍA, ÓRGANOS REPRODUCTIVOS FEMENINOS, PESO CORPORAL, PUBERTAD.

## Introduction

Nowadays, rabbit breeding in Mexico constitutes a growing industry. Among rabbit breeds intended for meat production, the New Zealand represents one of the most important.<sup>1,2</sup> Puberty is a process in which dynamic and gradual morphophysiological changes occur during a critical period and that concludes at different ages, depending on the breed, nutrition and diet and macro and micro environmental conditions in which animals are found.<sup>2,3</sup> The advance or delay in the reproductive function of the females entails economic losses for the rabbit breeder; therefore, it is very important to cautiously decide the moment in which a female initiates its reproductive life. It has been proposed that body weight, more than age, is the main aspect that should be taken into account at puberty, since it is directly related to the anatomical and functional maturity degree of the reproductive organs.

It has been reported that in rabbit does, body weight at the onset of reproductive activity is a decisive factor for their future reproductive activity; this is reflected in parameters such as the litter size at birth, size of nestlings and birth mortality. Likewise, New Zealand white rabbit does with low body weight at the onset of their reproductive life have lower lactogenic capacity; this explains why heavier females produce heavier nestlings at first kindling.<sup>3</sup>

Medium size breed rabbit does, as New Zealand; initiate their reproductive activity when approximating 80% of their adult weight (AW). They reach this process at 20 or 23 weeks of age,<sup>4</sup> around this weight, inseminating for the first time a nullipara doe is recommended. Therefore, the aim of the present study was to determine the anatomicomorphometric characteristics of New Zealand rabbit does' reproductive organs with different body weight in peripuberal period of transition.

New Zealand white rabbit does ( $n = 26$ ) obtained from a rabbit breeding farm located in the municipality of Tlaxco, Tlaxcala, Mexico, situated on the central high plateau of Mexico, in a geographic coordinate axis between  $19^{\circ} 36' 50''$  North latitude and  $98^{\circ} 07' 07''$  West longitude were used.

## Introducción

Actualmente, en México la producción cunícola constituye una industria creciente. Entre las razas de conejos destinadas a la producción de carne, la Nueva Zelanda representa una de las más importantes.<sup>1,2</sup> La pubertad es un proceso en el que ocurren cambios morfofisiológicos dinámicos y graduales en un periodo crítico y que concluye a distintas edades, dependiendo de la raza, la alimentación y las condiciones macro y micro ambientales en que se encuentran los animales.<sup>2,3</sup> El adelanto o retraso en el inicio de la función reproductiva de las hembras conlleva pérdidas económicas para el cunicultor, por lo que es muy importante decidir cuidadosamente el momento en que una hembra inicia su vida reproductiva. Se ha propuesto que el peso corporal, más que la edad, es el aspecto principal que debe tomarse en cuenta al momento de la pubertad, debido a que está directamente relacionado con el grado de maduración anatómica y funcional de los órganos genitales.

Se ha informado que en conejas, el peso corporal al inicio de su actividad reproductiva es un factor determinante para su futura eficiencia reproductiva, ésta se refleja en parámetros como el tamaño de la camada al parto, peso de los gazapos y la mortalidad al nacimiento. Asimismo, las conejas Nueva Zelanda blancas con bajo peso corporal al inicio de su vida reproductiva tienen menor capacidad lactógena, ello explica por qué las hembras más pesadas producen gazapos con mayor peso al primer parto.<sup>3</sup>

Las conejas de raza de talla mediana, como la Nueva Zelanda, inician su actividad reproductiva al aproximarse al 80% del peso adulto (PA). Este peso lo alcanzan a las 20 o 23 semanas de edad,<sup>4</sup> en torno a este peso, se recomienda inseminar por primera vez a una coneja nulípara. Por ello, el objetivo del presente estudio fue determinar las características anatomicomorfométricas de los órganos genitales de conejas Nueva Zelanda con distintos pesos corporales en el periodo de transición peripuberal.

Se utilizaron conejas Nueva Zelanda blancas ( $n = 26$ ) obtenidas de una granja cunícola ubicada en el municipio de Tlaxco, Tlaxcala, México, que se sitúa en el Altiplano

The farm is located at 2 540 masl, climate is temperate semi-humid, with raining pattern from June to September; the maximum temperature is 22.9°C and minimum of 5.3°C. The research was carried out from January to May. With the aim to observe the morphological changes in the reproductive organs regarding body weight, during peripuberal period, four groups of rabbit does were formed, according to a percentage of adult weight (AW) of this breed: Group A with  $2 \pm 0.1$  kg (40% of AW) (n = 5); Group B, with  $3 \pm 0.1$  kg (60% of AW) (n = 7); Group C, with  $3.5 \pm 0.1$  kg (70% of AW) (n = 7) and Group D with  $4 \pm 0.1$  kg (80% of AW) (n = 7); the animal weight was reached at ten, 16, 19 and 21 weeks, respectively.

Rabbit does were housed in individual cages and were fed *ad libitum* with commercial balanced feed with 18% crude protein and 12% of crude fiber. Females were weighed weekly from weaning. When rabbit does reached the required weight for each of the four groups, they were euthanized by means of stunning by cervical dislocation and immediate bleeding by jugular section,<sup>5</sup> according to the Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. After being euthanized, a median laparotomy was carried out to remove ovaries (*Ovarium [dextrum et sinistrum]*), uterine horns (*Cornu uteri [dextrum et sinistrum]*), cervix (*Cervix uteri*) and vagina.<sup>6</sup>

Special care was taken to remove, in this procedure, all connective and adipose tissue from the ligaments that give support to each organ. With a Vernier caliper,\* previous identification of the anatomical limits of each organ, length of the right and left ovaries, right and left uterine horns, cervix and vagina were measured. To obtain ovary tissue fragments, ovaries were longitudinally cut in two halves and the tissue was immediately kept in a fixing solution of buffered formaldehyde with phosphate buffer (pH 7.4) for 72 hrs. Afterwards, tissues were processed by paraffin embedding and five serial cuts from ovarian tissue from each animal with a thickness of 7  $\mu\text{m}$  were done with a standard microtome and then stained with Masson's trichrome to identify ovarian follicles in different maturation stages.<sup>7</sup>

With the purpose of classifying the follicles the criterion proposed by Hutt *et al.*<sup>8</sup> was followed. The primordial follicles are constituted by an ovocite surrounded by a layer of flat cells; primary follicles show an ovocite surrounded by a layer of cubic aspect cells; secondary follicles show an ovocite surrounded by two or more layers from the granulosa of well defined cubic form, and tertiary follicles show an ovocite surrounded by numerous layers composed by granulosa cells with a space between them that contains liquid and cells from the theca on the external peripheral part.

With a 40X objective from an optic microscope,\* in

Central de México, en un eje de coordenadas geográficas entre los 19° 36' 50", latitud Norte y 98° 07' 07", longitud Oeste.

La granja se sitúa a 2 540 msnm, el clima es templado subhúmedo, con régimen de lluvias de junio a septiembre; la temperatura máxima es de 22.9°C y la mínima de 5.3°C. El estudio se llevó a cabo de enero a mayo. Con el fin de observar los cambios morfológicos en los órganos genitales con respecto al peso corporal, durante el periodo peripuberal, se formaron cuatro grupos de conejas, de acuerdo con un porcentaje del peso adulto (PA) de esta raza: Grupo A con  $2 \pm 0.1$  kg (40% del PA) (n = 5); Grupo B, con  $3 \pm 0.1$  kg (60% del PA) (n = 7); Grupo C, con  $3.5 \pm 0.1$  kg (70 % del PA) (n = 7) y Grupo D con  $4 \pm 0.1$  kg (80% del PA) (n = 7); el peso de los animales se alcanzó a las diez, 16, 19 y 21 semanas, respectivamente.

Las conejas se alojaron en jaulas individuales y fueron alimentadas *ad libitum* con alimento balanceado comercial que contenía 18% de proteína cruda y 12% de fibra cruda. Las hembras se pesaron semanalmente a partir del destete. Cuando las conejas alcanzaron el peso requerido para cada uno de los cuatro grupos se les sacrificó mediante insensibilización por desnucamiento e inmediato desangrado por corte de la vena yugular,<sup>5</sup> de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. Posteriormente al sacrificio se efectuó laparotomía media para remover los ovarios (*Ovarium [dextrum et sinistrum]*), cuernos uterinos (*Cornu uteri [dextrum et sinistrum]*), cérvix (*Cervix uteri*) y vagina.<sup>6</sup>

En este procedimiento se tuvo especial cuidado de retirar todo el tejido conjuntivo y adiposo propio de los ligamentos que dan soporte a cada órgano. Con un calibrador Vernier,\* previa identificación de los límites anatómicos de cada órgano, se midió la longitud de los ovarios derecho e izquierdo, cuernos uterinos derecho e izquierdo, cérvix y vagina. Para obtener fragmentos de tejido ovárico se cortaron los ovarios en dos mitades en el plano longitudinal e inmediatamente el tejido se mantuvo en una solución fijadora de formalina amortiguada con amortiguador de fosfatos (pH 7.4) durante 72 horas. A continuación, los tejidos se procesaron por inclusión en parafina y con un microtomo estándar se efectuaron cinco cortes seriados del tejido ovárico de cada animal con un grosor de 7  $\mu\text{m}$  que se tiñeron con tricrómica de Masson para identificar los folículos ováricos en diferentes estadios de maduración.<sup>7</sup>

Con el propósito de clasificar los folículos se siguió el criterio propuesto por Hutt *et al.*<sup>8</sup> Los folículos primordiales están constituidos por un ovocito rodeado por una capa de células planas; los folículos primarios presentan un ovocito rodeado por una

\*Scala, Estados Unidos de América.

20 microscopic fields chose by chance (4 fields/cut), primordial, primary, secondary and tertiary follicles, present on the periphery of the cortex and ovarian medulla were counted. The observer who performed the count of the unknown follicular structures did not know to which group each histological preparation belonged.

The obtained results for each of the studied variables were submitted to a simple analysis of variance, to prove the existence of significant differences between the four groups with different body weights in the macroscopic variables: length of right and left ovaries, length of right and left uterine horns, cervix and vagina length; and among microscopic variables: primordial, primary, secondary and tertiary follicles. For the cases where there were differences, the HSD Tukey's test was used with the aim to identify these by group, by means of Stat-Soft Program®, Inc. Statistica, ver. 6.0.2001.

There were significant differences in the length of left and right ovaries between Group A and groups B, C and D ( $P < 0.05$ ), in both cases there were no differences between groups B and C, and C and D ( $P > 0.05$ ) (Table 1). In this context, in ovaries from Group A, changes in the histoarchitecture granulosa cell of primary follicles were observed, with presence of apoptotic bodies and vacuolated cytoplasm.

Regarding the length of the uterine horns, either in right or left there were significant differences between Group A and B, C and D ( $P < 0.05$ ) (Table 1). As for the cervix length, significant differences were found between Group A and B, C and D ( $P < 0.05$ ), as well as between Group B and groups C and D ( $P < 0.05$ ). On the other hand, there were no significant differences between groups C and D ( $P > 0.05$ ) (Table 1). In the vagina length a significant difference was found between Group A and groups B, C and D ( $P < 0.05$ ) (Table 1).

In the ovarian primordial follicle count result, significant differences were found between Group A and groups B, C and D ( $P < 0.05$ ) (Table 2). For primary and secondary follicles, no differences were found between the four groups studied ( $P > 0.05$ ) (Table 2). Regarding tertiary follicles, there was significant difference between Group A and the other groups ( $P < 0.05$ ) (Table 2, Figure 1).

The morphofunctional maturity of the feminine reproductive tract depends on hypothalamus-hypophysis-ovaries axis maturity; these changes take place at the onset of puberty and are gradual.<sup>9,10</sup>

In lower body weight rabbit does (Group A) there was predominance of primordial follicles; this finding coincided with presence of pale pink colored vulva in all rabbit does of the group. As it is known, the pale pink color of the vulva is indicative of little estrogenic

capa de células de aspecto cuboidal; los folículos secundarios presentan un ovocito rodeado por dos o más capas de células de la granulosa de forma cúbica bien definida, y los folículos terciarios presentan un ovocito rodeado por numerosas capas compuestas por células de la granulosa con un espacio entre ellas que contiene líquido, y células de la teca en la parte periférica externa.

Con el objetivo 40X de un microscopio óptico,\* en 20 campos microscópicos elegidos al azar (4 campos/corte), se contaron los folículos primordiales, primarios, secundarios y terciarios, presentes en la periferia de la corteza y en la médula ovárica. El observador que realizó el conteo de las estructuras foliculares desconocía el grupo al que correspondía cada preparación histológica.

Los resultados obtenidos para cada una de las variables estudiadas se sometieron a un análisis de varianza simple, para probar la existencia de diferencias significativas entre los cuatro grupos con distintos pesos corporales en las variables macroscópicas: longitud de ovarios derecho e izquierdo, longitud de cuernos uterinos derecho e izquierdo, longitud de cérvix y de vagina; y entre las variables microscópicas: folículos primordiales, primarios, secundarios y terciarios. Para los casos donde hubo diferencias, se utilizó la prueba de HSD de Tukey con el propósito de identificar éstas por grupo, mediante el Programa StatSoft®, Inc. Statistica, ver. 6.0. 2001.

Hubo diferencias significativas en la longitud de los ovarios derecho e izquierdo entre el Grupo A y los grupos B, C y D ( $P < 0.05$ ), en ambos casos no hubo diferencias entre los grupos B y C y C y D ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 1). En este contexto, en los ovarios de las hembras del Grupo A se observaron cambios en la histoarquitectura de células de la granulosa de folículos primarios, con presencia de cuerpos apoptóticos y citoplasma vacuolados.

Respecto de la longitud de los cuernos uterinos, tanto en el derecho como en el izquierdo se encontraron diferencias significativas entre el Grupo A y los de B, C y D ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1). En cuanto a la longitud del cérvix se encontraron diferencias significativas entre el Grupo A y los B, C y D ( $P < 0.05$ ), así como entre el Grupo B y los grupos C y D ( $P < 0.05$ ). En contraparte, no hubo diferencia significativa entre los grupos C y D ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 1). En la longitud de la vagina se encontró diferencia significativa entre el grupo A y los grupos B, C y D ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1).

En el resultado del conteo de folículos ováricos primordiales se encontraron diferencias significativas entre el Grupo A y los grupos B, C y D ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 2). Para los folículos primarios y secundarios no se encontraron diferencias entre los cuatro grupos

\*Axioplan, Carl Zeiss, México.

**Cuadro 1**

PROMEDIO ± EE DE LA LONGITUD (CM) DE OVARIOS, CUERNOS UTERINOS, CÉRVIX Y VAGINA DE CONEJAS NUEVA ZELANDA

AVERAGE ± SE LENGTH OF OVARIES, UTERINE HORNS, CERVIX AND VAGINA OF NEW ZEALAND RABBIT DOES

<i>Body weight (kg)</i>	<i>Right ovary</i>	<i>Left ovary</i>	<i>Right uterine horn</i>	<i>Left uterine horn</i>	<i>Cervix</i>	<i>Vagina</i>
A ( $2 \pm 0.1$ ) (N = 5)	1.12 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.98 ± 0.10 <sup>a</sup>	8.56 ± 0.78 <sup>a</sup>	7.82 ± 0.81 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.10 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.34 <sup>a</sup>
B ( $3 \pm 0.1$ ) (N = 7)	1.48 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.37 ± 0.09 <sup>b</sup>	10.84 ± 0.66 <sup>b</sup>	9.71 ± 0.69 <sup>b</sup>	1.45 ± 0.08 <sup>b</sup>	7.42 ± 0.29 <sup>b</sup>
C ( $3.5 \pm 0.1$ ) (N = 7)	1.61 ± 0.08 <sup>b,c</sup>	1.45 ± 0.09 <sup>b</sup>	11.11 ± 0.66 <sup>b</sup>	9.75 ± 0.69 <sup>b</sup>	1.91 ± 0.08 <sup>c</sup>	7.18 ± 0.29 <sup>b</sup>
D ( $4 \pm 0.1$ ) (N = 7)	1.82 ± 0.08 <sup>c</sup>	1.70 ± 0.09 <sup>b</sup>	12.42 ± 0.66 <sup>b</sup>	11.18 ± 0.69 <sup>b</sup>	1.85 ± 0.08 <sup>c</sup>	7.50 ± 0.29 <sup>b</sup>

<sup>abc</sup>Values with different superindex in the same column for each quantified variable, are different (P < 0.05).

N = animals/group.

**Cuadro 2**

PROMEDIO ± EE DEL NÚMERO DE FOLÍCULOS OVÁRICOS EN DIFERENTES ESTADIOS DE DESARROLLO DE CONEJAS NUEVA ZELANDA BLANCA CON DISTINTOS PESOS CORPORALES

AVERAGE ± SE OF THE NUMBER OF OVARIAN FOLLICLES IN DIFFERENT DEVELOPMENT STAGES OF NEW ZEALAND WHITE RABBIT DOES WITH DIFFERENT BODY WEIGHTS

<i>Body weight (kg)</i>	<i>Primordial follicles*</i>	<i>Primary follicles*</i>	<i>Secondary follicles*</i>	<i>Tertiary follicles*</i>
A ( $2 \pm 0.1$ ) (N = 5)	103 ± 8.69 <sup>a</sup>	3.22 ± 1.40 <sup>a</sup>	3.66 ± 0.74 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.49 <sup>a</sup>
B ( $3 \pm 0.1$ ) (N = 7)	57.35 ± 6.97 <sup>b</sup>	6.71 ± 1.12 <sup>a</sup>	1.42 ± 0.59 <sup>a</sup>	1.78 ± 0.39 <sup>b</sup>
C ( $3.5 \pm 0.1$ ) (N = 7)	38.42 ± 6.97 <sup>b,c</sup>	6.71 ± 1.12 <sup>a</sup>	1.71 ± 0.59 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.39 <sup>b</sup>
D ( $4 \pm 0.1$ ) (N = 7)	24.61 ± 7.23 <sup>c</sup>	4.61 ± 1.16 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.61 <sup>a</sup>	2.92 ± 0.41 <sup>b</sup>

<sup>abc</sup>Values with different superindex in the same column for each quantified variable, are different (P < 0.05).

\*In 20 microscopic fields.

influence,<sup>10</sup> due to scarce ovarian activity. Furthermore, it emphasizes the finding of low primordial follicles in the three groups of greater body weight.

The size and characteristic of the uterus depend on the reproductive stage; in young females it has a smooth surface and shows scarce muscular mass. Estrogens have morphogenic and proliferative activity on uterine, ovarian and vaginal tissue, hence increasing in size.<sup>11,12</sup>

estudiados (P > 0.05) (Cuadro 2). Respecto de los folículos terciarios, hubo diferencia significativa entre el Grupo A y los otros grupos (P < 0.05) (Cuadro 2, Figura 1).

La maduración morfológica del tracto genital femenino depende de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios; estos cambios ocurren al inicio de la pubertad y son paulatinos.<sup>9,10</sup>

En las conejas de menor peso corporal (Grupo



**Figura 1.** Fotomicrografía de folículos primordiales localizados en la región externa de la corteza (flecha gruesa), y un folículo primario (flecha delgada) en un corte histológico de ovario de coneja Nueva Zelanda del Grupo B ( $3 \pm 0.1$  kg). Tricrómica de Masson. 400X. Barra = 30  $\mu$ m.

**Figure 1.** Microphotography of primordial follicles located in the external region of the cortex (thick arrow), and one primary follicle (thin arrow) in a histological ovarian cut of New Zealand rabbit doe from Group B ( $3 \pm 0.1$  kg). Masson's trichrome . 400X. Bar = 30  $\mu$ m.

In the ovaries of Group A females, changes in the histoarchitecture of the granulosa cells from primary follicles were observed with presence of apoptotic and vacuolated cytoplasm bodies, these changes go with follicular atresia mediated by apoptosis.<sup>13</sup> There are reports in which rat atresic follicles cover approximately 70% of all follicles,<sup>14</sup> which explains the finding of atresic follicles from early stages of follicular maturity. In this sense, studies on transgenic mice have been done, where it is reported the participation of pro and antiapoptotic proteins, Bax and Bcl-2, respectively, in the control of primordial follicular population size.<sup>15</sup>

The importance of the primordial follicular development transition stage to early primary, in rabbit does' reproductive function has been recently reported. This change is characterized by the presence of morphology variations and granulosa cell proliferation index, which is indicative of the process of primordial follicle recruitment in the first folliculogenic wave.<sup>8</sup> The greater number of primary follicles observed in the female group with 60% of AW in relation to the group with 40% of AW, reflects this transition in ovarian follicle maturation.

The most evident morphometric changes regarding uterine horns length, cervix, vagina and ovarian follicle number, were recorded in the transition of females with 40% of AW in relation to groups with 60%, 70% and 80% of AW.

The vagina is characterized by its great length in sexually mature females; this characteristic has a very important function in spermatozoid viability during their path to the fecundation site, as well as constituting a fibromuscular copulating organ. In this sense, the significant change presented in vagina and cervix length was important among females of lower body weight (Group A) and the group with 60% of AW.

The onset of puberty in the female rabbit is affected by photoperiod.<sup>18</sup> In this order of ideas, it is very important to study the reproductive parameters of rabbit does in different latitudes of Mexico with the aim to know its repercussions on parameters like weight at the onset of puberty and maternal capacity,

A) hubo predominio de folículos primordiales; este hallazgo coincidió con la presencia de vulva de color rosa pálido en todas las conejas del grupo. Como se sabe, el color rosáceo pálido de la vulva es indicativo de poca influencia estrogénica,<sup>10</sup> debido a escasa actividad ovárica. Además, destaca el hallazgo de menor número de folículos primordiales en los tres grupos de mayor peso corporal.

El tamaño y características del útero dependen del estadio reproductivo; en hembras jóvenes es de superficie lisa y presenta escasa masa muscular. Los estrógenos tienen actividad morfogénica y proliferativa sobre los tejidos uterino, ovárico y vaginal, por lo que aumenta su tamaño.<sup>11,12</sup>

En los ovarios de las hembras del Grupo A se observaron cambios en la histoarquitectura de células de la granulosa de folículos primarios, con presencia de cuerpos apoptóticos y citoplasma vacuolados, estos cambios acompañan a la atresia folicular mediada por apoptosis.<sup>13</sup> Existen informes de que en la rata los folículos atrésicos comprenden aproximadamente 70% de todos los folículos,<sup>14</sup> lo que explica el hallazgo de folículos en atresia desde las etapas tempranas de maduración folicular. En este sentido se han efectuado estudios en ratones transgénicos en los que se informa de la participación de las proteínas pro y antiapoptóticas, Bax y Bcl-2, respectivamente, en el control del tamaño de la población de folículos primordiales.<sup>15</sup>

Recientemente se ha informado la importancia de la transición del estadio de desarrollo folicular de primordial a primario temprano en la función reproductiva de la coneja. Este cambio se caracteriza por la presencia de variaciones en la morfología e índice de proliferación de células de la granulosa, lo que es indicativo del proceso de activación del reclutamiento de folículos primordiales en la primera oleada de foliculogénesis.<sup>8</sup> El mayor número de folículos primarios observado en el grupo de hembras con 60% del PA con respecto al grupo con 40% del PA, refleja esta transición en la maduración de los folículos ováricos.

which impacts on the number and weight of nestlings at weaning.

Based on the results obtained in the present study, it is concluded that in New Zealand rabbit does the morphologic changes occur in reproductive organs, associated with body weight, they are more drastic in the transition period of 40% to 60% of AW, hence it represents a critical period in morphofunctional maturity. This study gives information that confirms the importance of body weight in rabbit does raised in farming conditions, in regard to their sexual maturity stage, which is relevant for defining the adequate moment to carry out first insemination.

## Acknowledgements

Special thanks to the Facultad de Agrobiología of the Universidad Autónoma de Tlaxcala for the support provided to achieve this study.

## Referencias

1. MCNITT JI, PATTON NM, CHEEKE PR, LUKEFAHR SD. Rabbit Production. 8<sup>th</sup> ed. Danville USA: Interstate Publishers, 2000.
2. TORRES LC, TORRES LR. Manejo en cunicultura. En: CARLOS BUXADÉ, coordinador. Zootecnia. Bases de Producción Animal. Madrid, España: Ed. Mundiprensa, 1996.
3. ROMMERS JM, MEIJERHOF R, NOORDHUIZEN JP, KEMP B. Relationships between body weight at first mating and subsequent body development, feed intake, and reproductive performance of rabbit does. *J Anim Sci* 2002; 80:2036-2042.
4. ALVARIÑO MR. Control de la Reproducción en el conejo. Madrid, España: Mundi Prensa, 1993.
5. ALUJA AS. Animales de Laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gac Med Méx* 2002; 138:295-298.
6. INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. Nomina Anatomica Veterinaria. 5<sup>th</sup> ed. Knoxville, USA: World Association of Veterinary Anatomists, 2005.
7. ESTRADA FE, PERALTA ZL, RIVAS MP. Manual de Técnicas Histológicas. México, DF: AGT Editor, 1982.
8. HUTT KJ, MCLAUGHLIN EA, HOLLAND MK. Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell Tissue Res* 2006; 326:809-822.
9. MELVIN EJ, LINDSEY BR, QUINTAL-FRANCO J, ZANELLA E, FIKE KE, VAN TASSELL CP *et al.* Estradiol, luteinizing hormone, and follicle stimulating hormone during waves of ovarian follicular development in prepubertal cattle. *Biol Reprod* 1999; 60:405-412.
10. BOBES RJ, PEREZ MM, GOMEZ Y, ROMANO MC. Metabolism of progesterone to estrogens and androgens by individual follicles of the goat ovary. *Small Rum Res* 2003; 47:233-242.

Los cambios morfométricos más evidentes en cuanto a la longitud de los cuernos uterinos, cérvix, vagina y el número de folículos ováricos, se registraron en la transición de hembras con 40% del PA respecto de los grupos con 60%, 70% y 80% del PA.

La vagina se caracteriza por su gran longitud en las hembras sexualmente maduras, esa característica tiene una función muy importante en la viabilidad de los espermatozoides durante su paso al sitio de fecundación, además de que constituye un órgano fibromuscular copulatorio. En este sentido, es importante el cambio significativo que presentó la longitud de la vagina y del cérvix entre las hembras de menor peso corporal (Grupo A) y el grupo con 60% del PA.

El inicio de la pubertad en la coneja es afectado por el fotoperíodo.<sup>16</sup> En este orden de ideas, es muy importante estudiar los parámetros reproductivos de las conejas en distintas latitudes de México con el fin de conocer sus repercusiones sobre parámetros, como peso al inicio de la pubertad y capacidad materna, lo que repercute en el número y peso de gazapos al destete.

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye que en la coneja Nueva Zelanda los cambios morfológicos que ocurren en los órganos genitales, asociados con el peso corporal, son más drásticos en el rango de transición de 40% a 60% del PA, por lo que representa un periodo crítico en su maduración morfofuncional. Este estudio aporta información que confirma la importancia del peso corporal de las conejas criadas en condiciones de granja, en relación con su estado de madurez sexual, lo cual es relevante para definir el momento adecuado para efectuar la primera inseminación.

## Agradecimientos

Se agradece a la Facultad de Agrobiología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala las facilidades otorgadas para la realización de este estudio.

11. ARAGONA P, PUZZOLO D, MICALI A, FERRERI G, BRITTI D. Morphological and morphometric analysis on the rabbit connective globet cells in different hormonal conditions. *Exp Eye Res* 1998; 66:81-88.
12. BAIW, OLIVEROS-SAUNDERS B, WANG Q, ACEVEDO-DUNCAN M, NICOSIA S. Estrogen stimulation of ovarian surface epithelial cell proliferation. *In Vitro Cell Dev Biol* 2000; 36:657-666.
13. KASUYA K. The process of apoptosis in follicular epithelial cells in the rabbit ovary, with special reference to involvement by macrophages. *Arch Histol Cytol* 1995; 58:257-264.
14. MANDAL GE, ZUCKERMAN S. The number of normal and atretic ova in the Mature rat. *J Endocrinol* 1950; 6:426-435.

15. FLAWS JA, HIRSHFIELD AN, HEWITT JA, BABUS JK, FURTH PA. Effect of Bcl-2 on the primordial follicle endowment in the mouse ovary. *Biol Reprod* 2001; 64:1153-1159.
16. KAMWANJA LA, HAUSER ER. The influence of photoperiod on the onset of puberty in the female rabbit. *J Anim Sci* 1983; 56:1370-1375.