ESTUDIO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN DOS LÍNEAS DE CONEJOS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE POR CAPACIDAD UTERINA

Mocé, M.L.,[1] Santacreu, M.A.,[2] Climent, A.,[2] Blasco, A.[2]

[1]Departamento de Producción Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Edificio Seminario. 46113 Moncada.
[2]Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. P.O. Box 22012. 46071 Valencia.

INTRODUCCIÓN

La selección por tamaño de camada provoca cambios en la supervivencia prenatal y en la tasa de ovulación (Blasco *et al.*, 1993). En ratón, existen trabajos en los que se ha observado que la selección por tamaño de camada o componentes del tamaño de camada provocaba un desarrollo embrionario temprano más acelerado (Al-Shorepy *et al.*, 1992; Durrant *et al.*, 1980). El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto que la selección divergente por capacidad uterina ha tenido sobre la supervivencia y el desarrollo embrionario temprano (72 - 75 horas post coito) en conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Las hembras proceden de las generaciones 13, 14 y 15 de un experimento de selección divergente por capacidad uterina (Blasco *et al.*, 2000). A las hembras pertenecientes a la generación 13 se les practicó una ovariectomía unilateral entre las 14-16 semanas de vida. Las hembras pertenecientes a las generaciones 14 y 15 son hembras intactas. Se utilizaron 124 hembras de la línea de alta capacidad uterina (CU+) y 115 hembras de la línea de baja capacidad uterina (CU-).

Caracteres: Los animales eran sacrificados 72-75 horas después de la monta. Los oviductos y primer tercio de los cuernos uterinos se perfundieron con 5 mL de DPBS suplementado con 0.132 gr de cloruro cálcico por litro, 0.2% de BSA y antibióticos. Los caracteres controlados fueron: tasa de ovulación (TOT), número de embriones (EMT) y número de oocitos (OO). Se calculó la tasa de recuperación, (TR), como (EMT+ OO)/TOT, y la tasa de fecundación, (TF), como EMT/(EMT + OO). En las hembras intactas los embriones recuperados fueron catalogados como mórulas tempranas (MT), mórulas compactadas (MC) y blastocistos (B).

Análisis estadísticos: Las variables TR, TF, porcentaje de mórulas tempranas (PMT), porcentaje de mórulas compactadas (PMC) y porcentaje de blastocistos (PB),fueron normalizadas usando la transformación propuesta por Freeman y Tukey (1950). El modelo utilizado para estimar las medias por mínimos cuadrados de los caracteres TOT, TR, TF y EMT, incluyó los siguientes efectos: línea con dos niveles (CU+ y CU-), tratamiento con dos niveles (unilateralmente ovariectomizada (ULO) o intacta), estado de lactación al sacrificio con cuatro niveles (nulíparas, primíparas no lactantes, multíparas no lactantes y multíparas lactantes), multíparas incluía animales de 2º a 4º parto y año-estación jerarquizado a tratamiento con cinco niveles (ULO verano 2000, ULO invierno 2000-01, Intacta invierno 2000-01, Intacta primavera 2001 e Intacta verano 2001). Para el carácter EMT se incluyó como covariable la tasa de ovulación. Para los caracteres PMT, PMC y PMT el modelo no incluyó el

efecto tratamiento. El programa estadístico usado fue el GLM del paquete estadístico SAS (SAS 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas líneas presentaron tasas de ovulación similares (tabla 1), resultado que corrobora los observados en experiencias anteriores realizadas sobre conejas ovariectomizadas unilateralmente o intactas (Argente *et al.*, 1997 y Santacreu *et al.*, 2000, respectivamente). La tasa de fecundación fue similar entre las dos líneas, pero debido a la mayor tasa de recuperación en las hembras CU+, se observaron diferencias entre las dos líneas en el número de embriones recuperados a tasa de ovulación constante. En estudios previos, se constató la existencia de diferencias entre ambas líneas en la supervivencia embrionaria a día 7 de gestación (0.89 en CU+ versus 0.77 en CU-, Santacreu *et al.*, 2000).

Tabla 1. Medias por mínimos cuadrados y errores estándar (e.s) para la línea de alta capacidad uterina (CU+) y diferencias de las medias por mínimos cuadrados entre línea CU+ y línea de baja capacidad uterina (CU-).

Carácter	(CU+) ± e.s	(CU+) - (CU-) ± e.s	
Tasa de ovulación	12.79±0.33	0.46±0.29	ns
Tasa de recuperación	0.80±0.03	0.08±0.03	**
Tasa de fecundación	0.94±0.02	-0.02±0.02	ns
Número de embriones[a]	9.74±0.45	0.96±0.40	*
Porcentaje mórulas tempranas[b]	0.11±0.03	-0.05±0.03	ns
Porcentaje mórulas compactadas[b]	0.51±0.04	-0.13±0.04	**
Porcentaje blastocistos[b]	0.38±0.04	0.17±0.04	***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, ns: no significativo.

[a] Análisis usando tasa de ovulación como covariable

[b] Porcentajes calculados respecto a número de embriones.

Por otra parte, se observaron diferencias en el desarrollo embrionario entre las dos líneas (Tabla 1 y Figura 1), presentando las hembras CU+ estadíos embrionarios más avanzados que los de la línea CU- (11% de mórulas tempranas versus 16%, 51% versus 64% de mórulas compactadas y 38% de blastocistos versus 21 %). En ratón, se ha observado que aquellas líneas que son seleccionadas por tamaño de camada o componentes del mismo presentan un desarrollo embrionario temprano más avanzado que las líneas no seleccionadas (Al-Shorepy *et al.*, 1992; Durrant *et al.*, 1980) o que las seleccionadas por bajo tamaño de camada (Moler *et al.*, 1981). Son varios los factores que afectan al desarrollo embrionario temprano y dependen de la madre, del embrión y de las interacciones que se establecen entre ellos. Así, se ha observado que en el oviducto y útero de conejas, se secreta IGF-I (Herrler *et al.*, 1997) y este factor favorece el desarrollo embrionario temprano (Herrler *et al.*, 1998). En porcino, la cantidad de estradiol secretada por el embrión está correlacionada positivamente con la concentración de IGF-I en el fluido uterino (Wilson y Ford 1997). Por otra parte, en embriones de ratón ha sido identificado un gen que afecta a la velocidad de las divisiones embrionarias tempranas (gen Ped). Los animales que presentan la variante alélica del gen que incrementa la velocidad de las divisiones embrionarias tempranas, presentan una mayor supervivencia entre la mitad de la gestación y el nacimiento (Exley y Warner 1999). Así pues, parece ser que un

desarrollo embrionario temprano más acelerado está asociado a una mayor supervivencia y por tanto a un tamaño de camada más elevado en ratón.
Los resultados obtenidos indican que las diferencias en número de embriones entre ambas líneas aparecen antes de las 72-75 horas de gestación y que la línea seleccionada por alta capacidad uterina muestra un desarrollo embrionario temprano más acelerado que la línea CU-, pero es necesaria la realización de nuevos estudios que permitan determinar si las diferencias que aparecen antes de las 72-75 horas de gestación se deben a factores maternos o embrionarios.

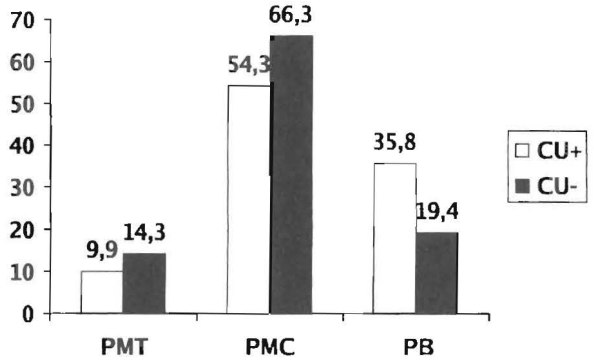


Figura 1. Medias para los porcentajes de mórulas tempranas (PMT), mórulas compactadas (PMC) y blastocistos (PB) para la línea de alta capacidad uterina (CU+) y la línea de baja capacidad uterina (CU-). Los porcentajes están calculados respecto al número total de embriones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Shorepy S.A., Clutter A.C., Blair R.M., Nielsen M.K., 1992. Biol. Reprod. 46: 958-963.

Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Bolet G., Blasco A., 1997. J. Anim. Sci. 75: 2350-2354.

Blasco A., Ortega J.A., Santacreu M.A., 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A, 347-352.

Blasco A., Bidanel J. P., Bolet G., Haley C.S., Santacreu M.A., 1993. Livest. Prod. Sci. 37, 1-21.

Durrant B.S., Eisen E.J., Ulberg L.C., 1980. J. Reprod. Fert. 59: 329-339.

Exley G.E., Warner C.M., 1999. Immunogenetics 49: 653-659

Freeman, M.F., J.W. Tukey. 1950. Ann. Math. Stat. 21:607-611.

Herrler A., Einspanier R., Beier H.M., 1997. Theriogenology 47: 1595-1607.

Herrler A., Krusche A.C., Beier H.M., 1998. Biol Reprod 59: 1302-1310.

Moler T.L., Donahue S.E., Anderson G.B., Bradford G.E., 1981. J. Anim. Sci. 51 (2): 300-303.

Santacreu M.A, Argente M.J., Mocé M.L., Blasco A., 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A, 491-495.

SAS 1997. SAS /Stat *User's Guide (Release 6.03). SAS Inst, Cary, NC.*

Wilson M. E., Ford S.P., 1997. Biol. Reprod. 56: 380-385.