

## **DESARROLLO EMBRIONARIO A LAS 48 HORAS POST-MONTA EN DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO.**

García, M.L.<sup>1</sup>, Giménez, V., Muelas, R., Argente, M.J.

<sup>1</sup>Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra de Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela, España.  
mariluz.garcia@umh.es

### **INTRODUCCIÓN**

Se está llevando a cabo un proceso de selección divergente por variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejo (Argente et al., 2011). Los resultados de las cuatro primeras generaciones de selección indican que la diferencia entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad presentan una diferencia de 0.70 para la variabilidad ambiental del tamaño de camada en la primera generación y se mantiene hasta la cuarta generación ( $D=0.64$ ). Además se produce respuesta correlacionada con la varianza fenotípica del tamaño de camada ( $D=0.81$ ), y una disminución del tamaño de camada en la línea H ( $D=-0.65$  gazapos).

El objetivo de este trabajo es estudiar el desarrollo embrionario a las 48 horas post-monta y tras 24 horas en cultivo, en dos líneas de conejo seleccionadas divergentemente para la variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **Animales**

Los animales utilizados en este estudio proceden de la cuarta generación de un experimento de selección divergente por variabilidad ambiental fenotípica del tamaño de camada (línea L: baja variabilidad; línea H: alta variabilidad). Los animales fueron criados en la granja de la Universidad Miguel Hernández de Elche. Las hembras fueron llevadas por primera vez a la monta a las 18 semanas de edad, para proseguir con un manejo en bandas semanales con montas 12 días post-parto. Para este experimento se utilizaron 20 hembras de la línea L y 17 hembras de la línea H, todas ellas multíparas no lactantes. Las hembras fueron montadas y 48 horas tras la monta se recuperaron los embriones, mediante perfusión de los oviductos con medio de lavado descrito por Mehaisen et al. (2006). Los embriones fueron clasificados como normales y se incubaron con medio de cultivo M199 (Sigma M5017) y suplementado con un 20% de FBS (v/v) (Sigma F4135) en atmósfera saturada a una temperatura de 37°C y con una concentración de CO<sub>2</sub> del 5% (Mehaisen et al., 2006). Tras 24 horas en cultivo (Püschel et al., 2010) los embriones fueron de nuevo clasificados según su grado de desarrollo.

#### **Caracteres**

Los caracteres analizados fueron la tasa de ovulación (TO), el número de embriones recuperados (ER) y el porcentaje de embriones normales (%EN). Con los embriones recuperados 48 h post-monta, se analizó el porcentaje de embriones de 16 células (%E16) y el porcentaje de inicios de mórulas (%IM), y con los embriones tras 24 horas en cultivo se analizó el porcentaje de inicios de mórulas (%IMc) y el porcentaje de mórulas compactas (%MCc).

#### **Análisis estadísticos**

Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. El modelo de efectos fijos utilizados tenía el efecto línea (con 2 niveles: alta (H) y baja (L) variabilidad) y el efecto estación (con 2 niveles: otoño y verano). Para los efectos sistemáticos se utilizó un prior plano acotado, y se asumió que las variables eran normales. Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros desconocidos se estimaron usando muestreo de Gibbs. La convergencia fue testada usando el criterio Z de Geweke y los errores de Monte Carlo fueron obtenidos usando el procedimiento de series temporales (Sorensen y Gianola, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las medias para la tasa de ovulación, los embriones recuperados y el porcentaje de embriones clasificados como normales. Estas variables presentan medias inferiores a las estimadas en otras líneas maternas de conejos (García et al., 2010). En la misma tabla se presentan los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada. La línea L presenta una mayor tasa de ovulación (1.22 óvulos, P= 89%) que la línea H. Aunque ambas líneas muestran casi el mismo número de embriones recuperados y el mismo porcentaje de embriones normales, su probabilidad de similitud es en ambos casos muy reducida, por lo que no se pueden extraer conclusiones firmes.

Los embriones recuperados 48 horas tras la monta fueron clasificados cómo embriones de 16 células o inicios de mórulas. Los resultados de esta clasificación se presentan en la tabla 2. El grado de desarrollo embrionario de estas líneas a 48 horas es inferior al de otras líneas maternas de conejo (García et al., 2010). La línea H presenta un menor desarrollo embrionario a 48 horas de gestación que la línea L. Concretamente, la línea H presentó un 12.9% más de embriones de 16 células y un 21.3% menos de inicios de mórulas que la línea L, siendo la probabilidad de relevancia del 80% y del 100% para ambos caracteres, respectivamente. El desarrollo de los embriones recuperados a 48 horas de gestación y puestos en cultivo 24 horas se presenta también en la tabla 2. La línea H presenta un mayor porcentaje de embriones clasificados como inicio de mórulas (D=54.2%; P=99%, Pr=98%) y un menor porcentaje de mórulas compactas (D=-53.9%; P=100%, Pr=98%).

Los resultados indican que la línea seleccionada para aumentar la variabilidad ambiental del tamaño de camada presenta un menor grado de desarrollo de sus embriones de 48 horas, y este menor grado de desarrollo se mantiene con los embriones cultivados *in vitro* durante 24 horas. Para completar este estudio sería interesante conocer el desarrollo embrionario de ambas líneas a 24 y 72 horas de gestación, así como el tamaño y la variabilidad en el tamaño de los embriones dentro de una misma hembra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., García, M.L., Muelas, R., Santacreu, M.A. & Blasco, A. 2011. XVI Jornadas de Producción Animal.
- García, M.L., Peiró, M.J., Argente, M.J. Merchán, M., Folch, J.M., Blasco, A. & Santacreu, M.A. 2010. J. Anim. Sci. 88: 1597-1602.
- Geyer, C.M. 1992. Statist. Sci. 7: 467-511.
- Mellasen, G.M.K., Viudes de Castro, M.P., Vicente, J.S. & Lavara, R. 2006. Theriogenology, 65: 1279-1291.
- Püschel, B., Bitzer, E. & Viebahn, C. 2010. Live rabbit embryo culture. Cold Spring Harbor Protocols 5 (1).
- Sorensen, D. & Gianola, D. 2002. Springer, New York, EEUU.

**Agradecimientos:** Este experimento ha sido financiado con el proyecto AGL2008-05514-C02-02 y la acción complementaria ACOMP09/2009/172.

**Tabla 1.** Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad del tamaño de camada para los caracteres tasa de ovulación (TO), embriones recuperados (ER) y porcentaje de embriones normales (%EN).

|     | Media | D     | HPD <sub>95%</sub> | P(%) | r   | Ps(%) | Pr(%) |
|-----|-------|-------|--------------------|------|-----|-------|-------|
| TO  | 12.0  | -1.22 | -2.83, 1.33        | 89   | 1   | 36    | 62    |
| ER  | 9.5   | 0.24  | -1.64, 1.89        | 64   | 0.5 | 39    | 40    |
| %EN | 81.6  | 8.29  | -1.65, 1.89        | 60   | 0.5 | 39    | 40    |

D: media posterior de la diferencia entre las líneas de baja (L) y alta (H) variabilidad del tamaño de camada. HPD<sub>95%</sub>: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0. r: valor de relevancia. Ps(%): Probabilidad de similitud (Probabilidad de que el valor absoluto de D sea menor que r). Pr(%): Probabilidad de relevancia, P(D>r) cuando D>0 y P(D<r) cuando D<0.

**Tabla 2.** Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad del tamaño de camada para los el porcentaje de embriones de 16 células (%E16) y porcentaje de inicios de mórulas (%IM) a las 48 horas post-monta y el porcentaje de inicio de mórulas (%IMc) y porcentaje de mórulas compactas (%MC) tras 24 horas de cultivo.

| 48 horas      |       | Media | D     | HPD <sub>95%</sub> | P(%) | r | Ps(%) | Pr(%) |
|---------------|-------|-------|-------|--------------------|------|---|-------|-------|
| Fresco        | % E16 | 9.8   | 12.9  | -6.93, 26.3        | 80   | 4 | 10    | 80    |
|               | %IM   | 81.2  | -21.3 | -41.1, -7.9        | 100  | 4 | 0     | 100   |
| +24 h cultivo | %IMc  | 54.9  | 54.2  | 16.1, 97.2         | 99   | 4 | 1     | 98    |
|               | %MC   | 45.1  | -53.9 | -92.0, -11.0       | 100  | 4 | 0     | 98    |

D: media posterior de la diferencia entre las líneas de baja (L) y alta (H) variabilidad del tamaño de camada. HPD<sub>95%</sub>: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0. r: valor de relevancia. Ps(%): probabilidad de similitud. (Probabilidad de que el valor absoluto de D sea menor que r). Pr(%): Probabilidad de relevancia, P(D>r) cuando D>0 y P(D<r) cuando D<0.

### EMBRYO DEVELOPMENT AT 48 H POST-COITUM OF TWO DIVERGENT LINES SELECTED FOR ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN THE LITTER SIZE IN RABBIT

**ABSTRACT:** The aim of this study is to evaluate the embryo development at 48 h post-coitum and after cultured during 24 h in two lines of rabbits divergently selected for environmental variability in litter size. Females of the high line (H) for environmental variability in litter size show a higher percentage of embryos of 16 cells (D=12.9%, P(D>0)= 80%) and lower percentage of early morulae (D=-21.3%, P(D<0)=100%) than females of the low line (L). When the embryos are cultured 24 h, the H line shows higher percentage of early morulae (D=54.2%, P(D>0)=99%) and lower percentage of compacted morulae (D=-53.9%, P(D<0)=100%). These preliminary results suggest that selection to reduce environmental variability in litter size may have an effect on the early embryo development.

**Keywords:** Selection, environmental variance, litter size, embryo development, rabbit.