

GENES CANDIDATOS PARA EL DESARROLLO EMBRIONARIO EN CONEJOS: II. GEN DE LA OVIDUCTINA

García, M.L.¹, Muelas R.¹, Agea, I.¹, Merchán, M.², Peiró, R.³, Blasco, A.³, Santacreu, M.A.³, Folch, J.M.², Argente, M.J.¹

¹ División de Producción Animal, Departamento de Tecnología Agroalimentaria. UMH.
mariluz.garcia@umh.es

² Unitat de Genètica i Millora Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments.
UAB

³ Unidad de Mejora Genética, Departamento de Ciencia Animal. UPV

INTRODUCCIÓN

En conejo, la selección divergente por capacidad uterina (Argente *et al.*, 1997) durante 10 generaciones ha conducido a una diferencia en hembras unilateralmente ovariectomizadas entre la línea de alta (H) y baja (L) capacidad uterina de 101 gazapos (Mocé *et al.*, 2005) cuando la respuesta a la selección se estima mediante una población control criopreservada. Santacreu *et al.* (2005) estimó las respuestas correlacionadas para el número de embriones implantados (1.79) y el tamaño de camada al parto (2.35) en hembras intactas. Estudios complementarios delimitaron que las diferencias entre las dos líneas seleccionadas divergentemente aparecían entre las 48 y las 62 horas de gestación (Peiró *et al.*, 2004), cuando los embriones se encuentran todavía en el oviducto. Parte de las diferencias entre las líneas H y L se produjeron en las dos primeras generaciones de selección (Blasco *et al.*, 2005), por lo que se supuso que estas diferencias podrían ser producidas por encontrarse segregando en la población un gen mayor sobre la capacidad uterina y el número de embriones implantados (Argente *et al.*, 2003).

La oviductina es una glicoproteína sintetizada por el epitelio del oviducto que favorece la capacitación espermática, la fecundación de los oocitos y el desarrollo embrionario temprano (Buhi, 2002; Killian, 2004). Por tanto, el gen de la oviductina podría ser un gen candidato para explicar las diferencias entre las líneas de conejo seleccionadas por capacidad uterina de forma divergente.

Merchán *et al.* (2005) encontraron un SNP en el exón 11 gen *OVGP1* asociado a las líneas H y L. El objetivo de este trabajo es conocer la relación entre los genotipos de la oviductina y el desarrollo embrionario de una población F2 obtenida a partir de las líneas H y L. Este trabajo es complementario al presentado en estas mismas jornadas por Argente *et al.* (2007) para el gen *TIMPI* y Peiró *et al.* (2007) para el gen del receptor de la progesterona.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. La descripción del material animal utilizado en esta experiencia está descrito en Peiró *et al.* (2007).

Genotipado del gen de la Oviductina. A partir de muestras de sangre se realizó la extracción del ADN genómico siguiendo el protocolo de ABI PRISM™ 6100 Nucleic Acid PrepSation (Applied Biosystems). Se diseñó un par de primers sobre el exón 11 utilizando la secuencia del ADNc de la oviductina del conejo (GenBank AF347052) y se amplificó un fragmento de PCR de 174 pb. El genotipado del SNP G/C₁₄₁₃ se realizó por Pirosecuenciación en un equipo PSQ HS 96. El genotipo GG fue más frecuente en la línea L y el genotipo CC fue más frecuente en la línea H.

Caracteres. Los caracteres estudiados fueron la tasa de ovulación (TO) y la tasa de fecundación (TF). Además también se estudió la supervivencia embrionaria (SE) y el porcentaje de embriones en cada uno de los estados de desarrollo: inicios de mórulas (IM) y mórulas compactas (MC) a las 48 horas, y éstos y blastocistos (B) a las 72 horas después de la monta (más detalles en Peiró *et al.*, 2007).

Análisis estadísticos. Los análisis se realizaron siguiendo la metodología bayesiana y los detalles de estos análisis junto los modelos utilizados son los descritos por Peiró *et*

al., 2007). En este caso el efecto del genotipo se corresponde con el gen de la oviductina, con 3 niveles; CC, CG y GG.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados únicamente se presentan las diferencias entre los homocigotos. Por ello, se analizaron un total de 55 y 66 hembras CC a las 48 horas y a las 72 horas de gestación, respectivamente. Para el genotipo GG se utilizaron 29 hembras a las 48 horas de gestación y 18 hembras a las 72 horas.

En la Tabla 1 se presentan los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre los genotipos CC y GG para gen de la oviductina. Se consideró que una diferencia de un óvulo por hembra era una diferencia relevante ($b=1$), por tanto, la diferencia estimada entre los dos genotipos se considera irrelevante ($D=0.39$; $Pr=7\%$). Se consideró como relevante una diferencia de un 8% en la TF. A pesar de que la probabilidad de que el genotipo GG tenga una mayor TF que el genotipo CC es elevada ($P(D>0)=93\%$), la diferencia estimada entre los dos genotipos es irrelevante ($D=-3.96\%$) y la probabilidad de que sea relevante es nula. Este resultado está en concordancia con los datos anteriores de las líneas parentales, pues no se han encontrado diferencias significativas para la TO (Mocé *et al.*, 2004; Santacreu *et al.*, 2005) ni para la TF entre las líneas H y L (Mocé *et al.*, 2004; Peiró *et al.*, 2004).

Los genotipos CC y GG no presentan diferencias relevantes para SE a 48 horas post-coito. Cuando se estudia el desarrollo de los embriones a las 48 horas post-coito, éstos se encuentran en estados de desarrollo correspondientes a IM o MC. Una diferencia en el estado de desarrollo de un 4% es lo que se ha considerado como relevante. La diferencia en el porcentaje de IM entre los genotipos CC y GG se considera relevante ($D=-6.16\%$) y a favor del genotipo GG, predominante en la línea L. La probabilidad de que el porcentaje de IM para el genotipo GG sea superior al genotipo CC es del 79% y de que sea relevante es del 61%. Por tanto, las hembras con genotipo CC presentan un desarrollo embrionario más acelerado a 48 horas de gestación.

La diferencia entre genotipos para SE a 72 horas post-coito se considera relevante ($D=-0.56$; $Pr=79\%$) y a favor del genotipo GG. Este resultado es concordante con el obtenido por Merchán *et al.* (2006) para esta misma población, en la que el genotipo GG obtuvo mayor número de embriones implantados ($D=-0.58$; $P(D>0)=15\%$). Los grados de desarrollo embrionario encontrados en este momento de la experiencia fueron IM, MC y B. El genotipo GG para el gen de la oviductina presenta mayor porcentaje de IM que el genotipo CC ($P(D>0)=86\%$), siendo esta diferencia relevante ($D=-10.32\%$). Las diferencias para el porcentaje de mórulas compactas no se pueden considerar como relevantes ($D=2.48\%$, $b=4\%$). El porcentaje de embriones catalogados como B sería superior al genotipo CC, predominante en la línea H (7.84%). Por tanto, las hembras de genotipo CC presentan también a 72 horas de gestación un desarrollo embrionario más acelerado que las de genotipo GG.

CONCLUSIONES

Las diferencias alélicas encontradas para el gen de la oviductina en las líneas H y L podrían explicar el diferente número de embriones recuperados a 72 horas post-coito y el grado de desarrollo de los embriones en estas líneas. El genotipo GG, predominante en la línea L, presenta mayor número de embriones recuperados a 72 horas post-coito y menor grado de desarrollo de los embriones a 48 horas y a 72 horas de gestación que el genotipo CC predominante en la línea H.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos CICYT AGL2001-3068-C03 y AGL2005-07624-C03.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., Santacreu, M.A., Climent, A., Bolet, G., Blasco, A. 1997. *J. Anim. Sci.* 75, 2350-2354.
- Argente, M.J., Blasco, A., Ortega, J.A., Haley, C.S. Visscher, P.M. 2003. *Genetics* 163, 1061-1068.
- Argente, M.J., García, M.L., Agea I., Muelas R., Peiró R., Merchán M., Folch J.M, Santacreu M.A., Blasco A. 2007. ITEA.
- Blasco, A., Ortega, J.A., Climent, A., Santacreu, M.A. 2005. *J. Anim. Sci.* 83, 2297-2302.
- Buhi, W.C. 2002. *Reprod.* 123, 355-362.
- Killian, G.J. 2004. *Anim. Repro. Sci.* 82-83, 141-153.
- Merchán, M., Peiró, R., Estellé, J, Sastre, Y., Santacreu, M.A., Folch, J.M. 2005. *Reprod. Domest. Anim.* 40 (4), 409.
- Merchán, M., Peiró, R., Argente, M.J., García, M.L., Agea, I., Santacreu, M.A., Blasco, A., Folch, J.M. 2006. 8th WCGALP. Brasil.
- Mocé, M.L., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 2004. *J. Anim. Sci.* 82, 1046-1052.
- Mocé, M.L., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 2005. *J. Anim. Sci.* 83, 2308-2312.
- Peiró, R., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 2004. 8th World Rabbit Congress. México.
- Peiró, R., Merchán, M., Santacreu, M.A. Argente, M.J. García, M.L., Agea, I., Muela, R. Folch, J.M Blasco, A. 2007 ITEA
- Santacreu, M.A., Mocé, M.L., Climent, A., Blasco, A. 2005. *J. Anim. Sci.* 83, 2303-2307.

Tabla 1. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre el genotipo CC y GG para la tasa de ovulación (TO), tasa de fecundación (TF), supervivencia embrionaria (SE), porcentaje de inicio de mórulas (IM) y porcentaje de mórulas compactas (MC).

| | D | HPD _{95%} | P(D>0) (%) | b | Pr (%) | P(D>b) (%) | MCse | Z |
|-----------------------------|--------|--------------------|---------------|------|--------|------------|-------|--------|
| TO | 0.39 | -0.37, 1.50 | 83 | 1 | 7 | 0 | 0.004 | -0.499 |
| TF (%) | -3.96 | -6.64, 0.89 | 7 | 8 | 1 | 0 | 0.022 | -0.144 |
| . 48 horas gestación | | | | | | | | |
| SE | 0.03 | -0.64, 0.70 | 54 | 0.25 | 47 | 26 | 0.003 | -1.142 |
| IM (%) | -6.16 | -21.98, 7.08 | 21 | 4 | 70 | 9 | 0.073 | -0.088 |
| . 72 horas gestación | | | | | | | | |
| SE | -0.56 | -1.71, 0.38 | 14 | 0.25 | 79 | 6 | 0.005 | 1.135 |
| IM (%) | -10.32 | -28.92, 7.32 | 14 | 4 | 82 | 7 | 0.099 | -0.973 |
| MC (%) | 2.48 | -19.72, 23.55 | 58 | 4 | 73 | 45 | 0.118 | -0.973 |

D: media posterior de la diferencia entre los genotipos CC y GG; HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%; P(D>0): probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero; b: diferencia relevante asumida; Pr: probabilidad de la relevancia (probabilidad que D sea mayor que b en valor absoluto); P(D>b): probabilidad que D sea relevante a favor del genotipo CC; MCse: error estándar de Monte Carlo; Z: valor Z del test de Geweke.