



# ASPECTOS DE LA GENÉTICA MOLECULAR CUNICOLA. CASO PRÁCTICO (2ª parte)

Peiró R.<sup>1</sup>, García M.L.<sup>2</sup>, Agea I.<sup>2</sup>, Argente M.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Mejora Genética, Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia (UPV), P.O. Box 22012, 46071 Valencia, España.

<sup>2</sup>División de Producción Animal, Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH), 03312 Orihuela, España



El desarrollo de la genética molecular en los últimos años, ha permitido la identificación de genes y/o regiones del cromosoma que contienen genes que afectan a caracteres de importancia económica. El tamaño de camada en conejo, es considerado un carácter económicamente importante, y a pesar de que se ha obtenido respuesta a la selección con los métodos clásicos de selección (índices de selección o BLUP), esta respuesta es menor a la esperada, al igual que ocurre en otras especies prolíficas como el porcino. Estos métodos se basan en la predicción de los valores aditivos de los animales utilizando sus datos fenotípicos así como la información genealógica. Sin embargo, en caso de caracteres de baja heredabilidad, en caracteres difíciles de medir, en caracteres que se expresan en una etapa tardía del animal, o caracteres en los que solo se expresan en un sexo, el uso de la genética molecular puede ayudar a incrementar la respuesta genética (Peiró et al., 2006).

Los componentes biológicos que determinan el tamaño de camada al nacimiento son la tasa de ovulación, la tasa de fecundación y la mortalidad prenatal. A pesar de que la tasa de ovulación es el factor limitante del tamaño de camada, el carácter de mayor interés biológico es la mortalidad prenatal, tanto en las especies prolíficas,

como el conejo o el porcino, como en la especie humana. En conejo, la mortalidad prenatal es de aproximadamente el 30%, y se puede dividir en mortalidad embrionaria o preimplantacional (supone un 15%) y mortalidad fetal o postimplantacional (supone un 20%) (Adams 1960; Santacreu, 1992; Santacreu et al. 2000).

El estudio de los factores que conducen a las alteraciones en el desarrollo embrionario y/o fetal es complejo pues existen un gran número de factores que están relacionados tales como factores de crecimiento, proteínas, receptores, ect. Una población F2 procedente de un cruce de animales seleccionados de forma divergente para el mismo carácter es una población adecuada para realizar este tipo de estudios, pues en principio solo se deberían haber modificado el gen/los genes relacionados con dicho carácter. En nuestro caso, mediante el cruce de las líneas divergentes seleccionadas por capacidad uterina (Argente et al., 1997) se ha constituido una población F2 adecuada para estudiar genes relacionados con la supervivencia embrionaria y/o fetal.

En conejo se ha realizado el primer trabajo experimental en el que se utiliza la información genética molecular mediante un trabajo experimental llevado a cabo con la

colaboración de tres universidades: la Universidad Politécnica de Valencia, Universidad Miguel Hernández y Universidad Autónoma de Barcelona.

## 1. EXPERIMENTO DE CAPACIDAD UTERINA

Debido a que la selección por tamaño de camada ha presentado una respuesta menor de la esperada se han propuesto diferentes métodos de selección indirecta: uno de ellos ha sido la capacidad uterina. La capacidad uterina fue definida por Christenson et al. (1987) como el número de fetos que una hembra puede gestar sin que la tasa de ovulación sea un factor limitante.

Debido a que la coneja tiene dos cuernos uterinos independientes y por tanto no hay trasmigración uterina, la ovariectomía unilateral ha sido utilizada para estimar la capacidad uterina. La ovariectomía unilateral consiste en la extirpación de un ovario, produciéndose una compensación ovárica en el ovario remanente, de manera que en promedio se duplica la tasa de ovulación y por

tanto el cuerno uterino funcional sea atestado con el doble de embriones que en condiciones normales (figura 4).

En el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia se ha llevado a cabo un experimento de selección por capacidad uterina medida como el tamaño de camada en hembras unilateralmente ovariectomizadas (Argente et al., 1997). Después de 10 generaciones de selección divergente la línea seleccionada para incrementar la capacidad uterina (H) presentaba un mayor número de embriones implantados (1.9) y un mayor tamaño de camada (2.3 gazapos) que la línea seleccionada para disminuir la capacidad uterina (Santacreu et al., 2005) aunque ambas líneas presentaban una tasa de ovulación similar (Mocé et al., 2002; Santacreu et al., 2005). Al estimar la respuesta entre ambas líneas (H y L) con una población control, se observó que la diferencia obtenida se debe a un descenso de la supervivencia embrionaria y fetal de la línea L (Santacreu et al., 2005).

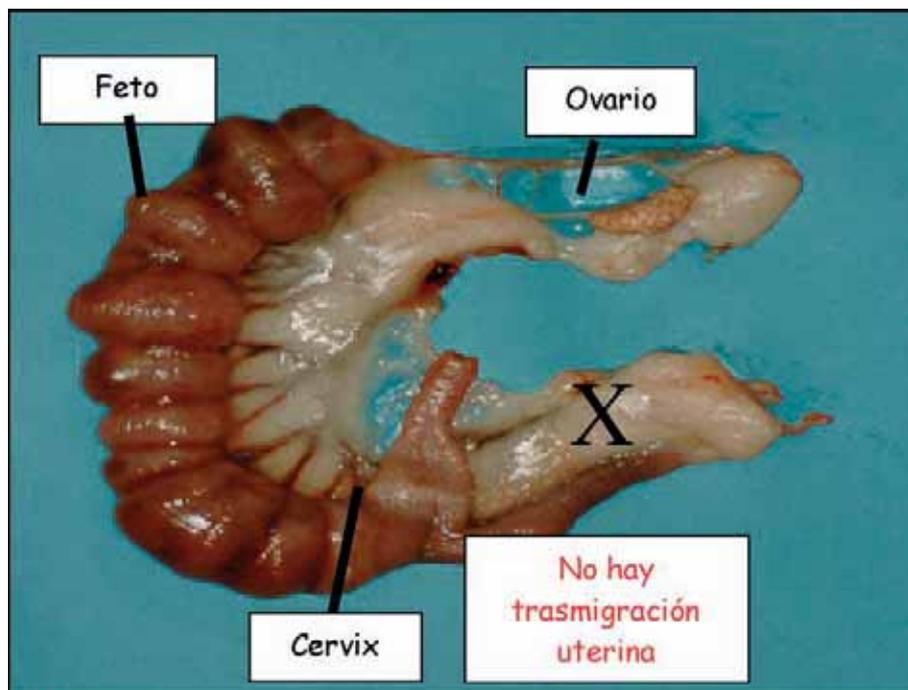


Figura 4: Tracto reproductivo a los 18 días de gestación de una hembra unilateralmente ovariectomizada.

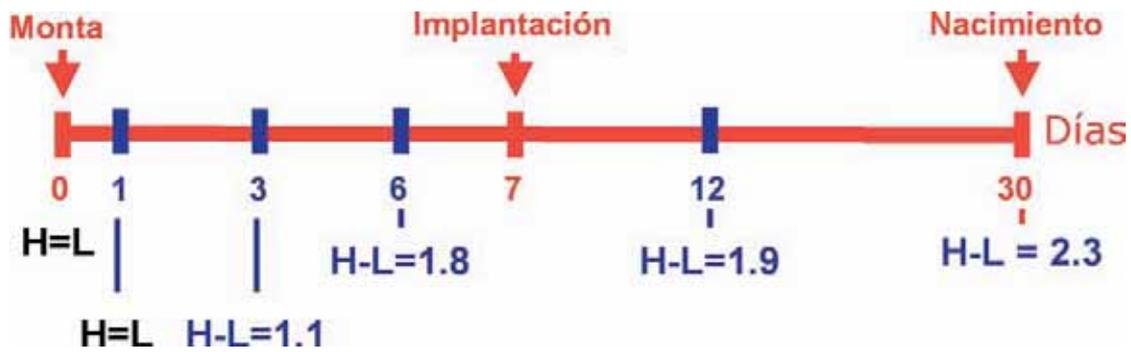


Figura 5. Cronología de las diferencias observadas entre la línea de alta (H) y baja (L) capacidad uterina durante la gestación.

Debido a que parte de las diferencias entre las líneas H y L se produjeron en las dos primeras generaciones de selección (Blasco et al., 2005) se supone la existencia de un gen mayor relacionado con la supervivencia prenatal. Además, resultados de un análisis de segregación sugieren la existencia de un QTL segregando en la población base para la capacidad uterina y el número de embriones implantados (Argente et al., 2003).

Debido a que no se disponían de suficientes marcadores moleculares distribuidos a lo largo de todo el genoma en conejo para realizar un análisis de ligamiento, se decidió realizar la búsqueda de QTL por la aproximación del gen candidato (se realiza en función de la fisiología del carácter) por lo que era importante conocer si las diferencias en supervivencia (o mortalidad) se producían durante el proceso de implantación o anteriormente.

Mocé et al. (2002) obtuvieron una supervivencia embrionaria mayor en la línea H que en la línea L en el sexto día de gestación (antes de la implantación). Esta diferencia fue similar a la obtenida después de la implantación (Figura 5), por lo que el momento de la implantación no parecía ser el periodo crítico en el que se producían las diferencias en las pérdidas embrionarias. Al evaluar la supervivencia embrionaria a las 72-75 horas de gestación la línea H presentaba un mayor número de

embriones y un mayor desarrollo embrionario que la línea L (Mocé et al., 2004).

Estas diferencias encontradas en el número de embriones empiezan a ser relevantes a las 62 horas de gestación, no encontrándose diferencias ni a las 25 ni a las 48 horas de gestación. En cuanto al desarrollo embrionario, las líneas presentan un desarrollo similar a las 25 horas de gestación, pero tanto a las 48 como a las 62 horas de gestación la los embriones de la línea H presentan un desarrollo embrionario superior que los embriones de la línea L (Peiró et al., 2004).

## 2. GENES CANDIDATOS.

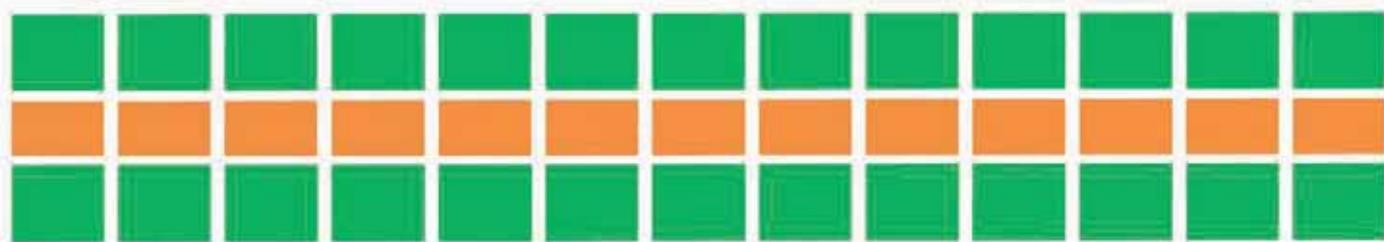
Una vez conocido en que momentos se producían las diferencias en la supervivencia y el desarrollo embrionario, se estudiaron genes relacionados con proteínas que estuvieran presentes en el oviducto y útero en las primeras etapas de la gestación y cuya actividad está relacionada con el desarrollo y supervivencia del embrión:

- La **uteroglobina** es el principal componente proteico (40-60%) de la secreción uterina durante la implantación y está relacionado con la protección del blastocisto, observándose en los embriones a partir del día cuarto de gestación (Gutierrez-Sagal et al., 1993; Beier, 2000;). Además, su expresión está regulada por la acción



piensos  
**VIGORAN**<sup>®</sup>

El pienso más rentable para el cunicultor



Hospital, 46 – 12513 Catí (Castellón) – Tel. 964 40 90 00 Fax 964 40 91 12  
[www.piensosvigoran.es](http://www.piensosvigoran.es) e-mail: [vigoran@piensosvigoran.es](mailto:vigoran@piensosvigoran.es)

LA GENETICA AL LADO DEL CUNICULTOR



[www.hycat.net](http://www.hycat.net)

Granges Can Rafel, S.L. Ctra.de Vidrà, Km.5,5  
08584.Sta.Maria de Besora ( Barcelona -España)

Tel. 93 852 91 36 Fax.93 852 90 51  
[hycat@hycat.net](mailto:hycat@hycat.net)



# caliermutin®

la garantía del éxito

**caliermutin®**  
LA TIAMULINA MEJORADA

- Aprobado para porcino y conejos
- "0 días" de periodo de retirada en conejos
- Posología en mg/kg P.V.
- Máxima biodisponibilidad
- Máxima homogeneidad de la premezcla y del pienso acabado
- Máxima estabilidad
- Mayor fluidez
- Menor pulverulencia
- Sinergia con tetraciclinas



## CALIER

En 2 presentaciones:  
2% y 10%



avanza hacia el futuro

*con toda nuestra  
experiencia*



LABORATORIOS CALIER, S.A.  
Parc Empresarial Mas Blau II  
Alta Ribagorça, 6-8  
08820 El Prat del Llobregat  
(Barcelona) ESPAÑA  
Tel: +34 935 069 100  
Fax: +34 935 069 191  
e-mail: laboratorios@calier.es  
web: <http://www.calier.es>

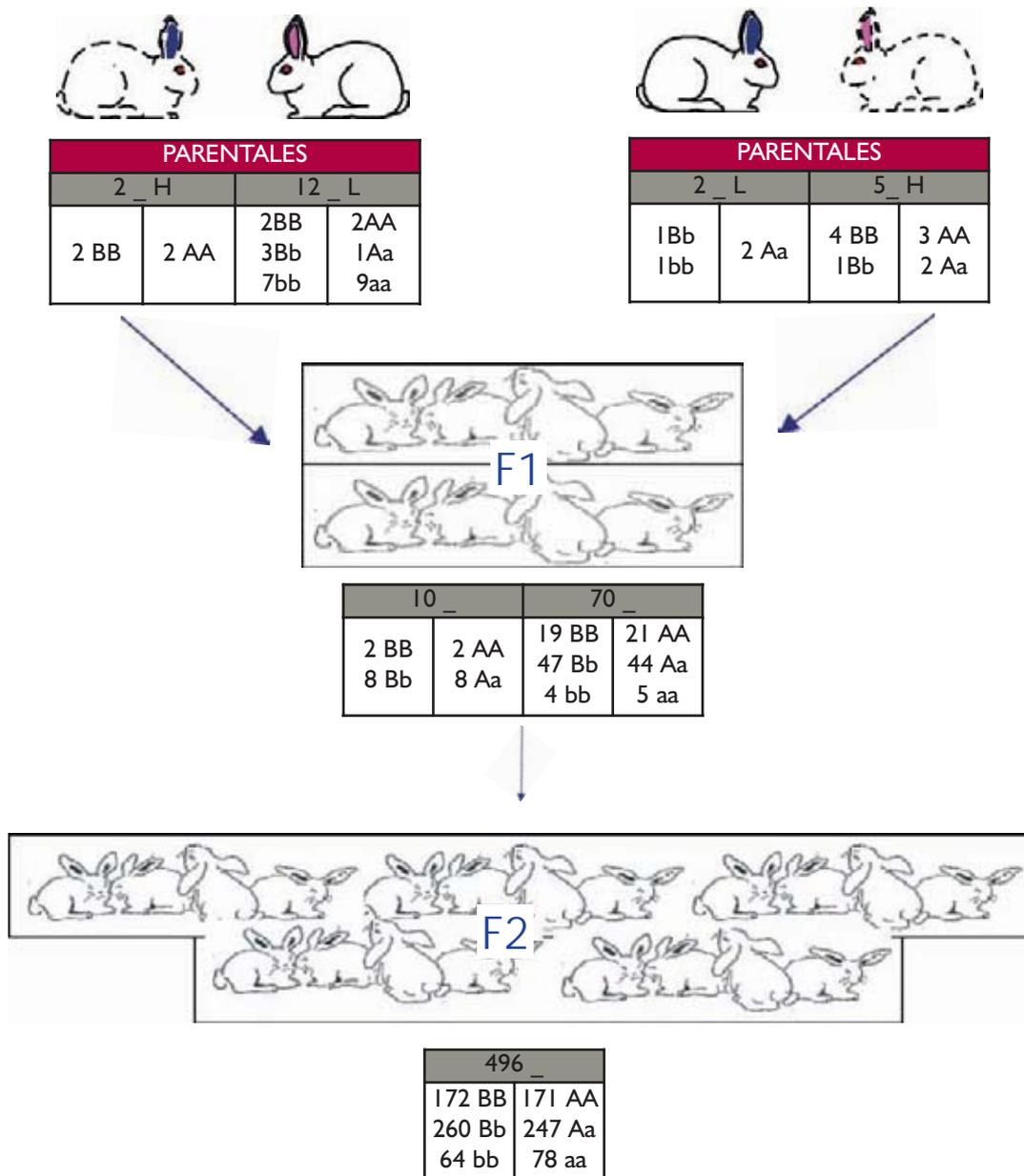
de las hormonas esteroideas en los tejidos reproductivos (progesterona y estradiol).

- El **receptor de la progesterona** codifica a una proteína, la progesterona, que está relacionada con la liberación del ovocito maduro, la implantación del embrión, el mantenimiento de la gestación y el crecimiento uterino (Gutierrez-Sagal et al., 1993). En ausencia de la hormona, el receptor es

transcripcionalmente inactivo, de manera que solo cuando la progesterona se une produce un cambio conformacional en el gen que produce que sea activo.

- La **oviductina** es una proteína que se expresa en el oviducto y que está relacionada con la fecundación y el desarrollo embrionario temprano (Hendrick et al., 2001; Bui, 2002).

Figura 6: Esquema del cruce F2



AA: animal homocigoto con los dos alelos designados como favorable para el receptor de progesterona; Aa: animal heterocigoto para el receptor de progesterona; aa: animal homocigoto con los dos alelos designados como desfavorable para el receptor de progesterona; BB: animal homocigoto con los dos alelos designados como favorable para la oviductina; Bb: animal heterocigoto para la oviductina; bb: animal homocigoto con los dos alelos designados como desfavorable para la oviductina; H: animal perteneciente a la línea seleccionada para aumentar la capacidad uterina; L: animal perteneciente a la línea seleccionada para disminuir la capacidad uterina; F1: animal procedente del cruce de un animal procedente de la línea H y L; F2: animal procedente del cruce de animales F1.

**El tamaño de camada en conejo es considerado un carácter económicamente importante, pero se ha obtenido respuesta a la selección con los métodos clásicos de selección menor a la esperada.**

- La **IGF-I**, factor de crecimiento similar a la insulina-I, es una hormona que está relacionada con el mantenimiento de la función normal de las células, promueve el desarrollo embrionario preimplantacional y previene la degeneración de los embriones (Herrler et al., 1998).
- El **TIMP-I** es una proteína que se expresa en el tracto reproductivo de la coneja, y que está relacionada tanto con el desarrollo embrionario como con la implantación (Brew et al., 2000).

Al secuenciar los genes candidatos en los animales de las líneas H y L se observaron varios cambios nucleotídicos en la zona del promotor y en la parte de los exones que codifica a la proteína (cambio no silencioso), y en estos casos, se analizó si existía una asociación entre estos cambios nucleotídicos y las líneas, es decir, si la frecuencia de un nucleótido en una línea era superior a la frecuencia de ese mismo

nucleótido en la otra línea. Aunque se encontraron cambios nucleotídicos que producían cambios en algún aminoácido para el gen de la uteroglobina, del TIMP-I y de la IGF-I, estos cambios no estaban asociados a las líneas, por lo que en principio no podían explicar las diferencias (o parte de éstas) encontradas entre ambas líneas. Sin embargo, si que se encontraron cambios nucleotídicos asociados a las líneas en el gen del receptor de la progesterona y el de la oviductina (Merchán et al., 2004). En el gen del receptor de la progesterona se han encontrado 4 cambios de aminoácidos: uno de ellos está en la zona del promotor del gen y tres en la región del exón 1 que no codifica a proteína. De todos estos cambios, sólo el cambio que se produce en la zona del promotor podría explicar parte de las diferencias en la supervivencia embrionaria modificando la expresión del gen. En el gen de la oviductina, a pesar de que se han encontrado 10 cambios nucleotídicos en la región codificante de la proteína, solo tres de estos cambios producen un cambio de dos aminoácidos, por lo que en este caso las diferencias entre ambas líneas se deberían a una alteración de la funcionalidad de la proteína.

### **3. POBLACIÓN ANIMAL.**

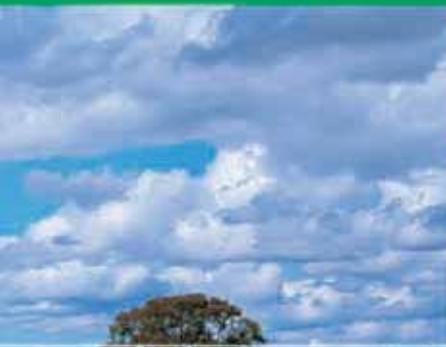
Para conocer la existencia de un gen mayor se está realizando actualmente un experimento F2 a partir del cruce de las lí-





**GAUN, S.A.**

**Instalaciones y Materiales  
para CUNICULTURA**



Engorde  
Polivalentes  
Reposición  
Accesorios ...



**GAUN, S.A.**

Ctra. Nacional 340 Km. 642,5  
LIBRILLA (Murcia)  
Tel.: 968 658 136 Fax: 968 658 406

**ATENCIÓN AL CLIENTE**  
 **968 658 027**  
[www.gaunsa.com](http://www.gaunsa.com)



neas H y L (Figura 6), pues como ya se ha justificado anteriormente, una población F2 obtenida a partir de dos líneas parentales que han sido seleccionadas divergentemente es la población más adecuada para conocer el efecto de los polimorfismos encontrados para los genes de la oviductina y el receptor de la progesterona sobre la supervivencia embrionaria. Para ello se cruzaron 3 machos de la línea H (uno de ellos sin genotipar) con 12 hembras de la línea L, y 3 machos de la línea L (uno de ellos sin genotipar) con 5 hembras de la línea H. De la descendencia de estos cruces, 10 machos y 70 hembras F1 se cruzaron para producir un total de más de 500 hembras F2. Según la distribución de genotipos que se presentan en la figura 6, el 50% de los animales F2 son heterocigotos para el gen de la oviductina y el receptor de la progesterona, aproximadamente el 35% son homocigotos dominantes y el 15% homocigotos recesivos. Esta distribución de los genotipos no es exactamente la esperada en la teoría ( $1/2$ ,  $1/4$  y  $1/4$  respectivamente) debido a que no todos los animales de la población F1 son homocigotos.

Para conocer si el receptor de la progesterona y/o la oviductina son los genes responsables de al menos parte de las diferencias obtenidas entre ambas líneas, es necesario realizar un análisis de asocia-

ción, es decir, ver si las hembras F2 que tienen el genotipo más habitual en los animales de la línea H (AA y BB en la figura 5) tienen una mayor supervivencia embrionaria y un mayor tamaño de camada que las hembras que tienen el genotipo más habitual en la línea L (aa y bb en la figura 5), pues en este caso son los caracteres de interés. Para ello, es necesario obtener 4 partos de unas 500 hembras, así como realizar una laparoscopia a los 12 días de la segunda gestación.

**La genética molecular puede ayudar a las producciones en casos de caracteres de baja heredabilidad, de caracteres difíciles de medir, de caracteres que se expresan en una etapa tardía del animal, o de caracteres en los que solo se expresan en un sexo.**

Los primeros resultados indican que el receptor de la progesterona explica parte de las diferencias entre ambas líneas, ya que mientras no existen diferencias en la tasa de ovulación entre los diferentes genotipos, los animales que presentan el genotipo más frecuente en la línea H (BB) tienen un mayor número de embriones implantados y de nacidos vivos que el genotipo más frecuente en la línea L (bb) (0.62 y 0.76, respectivamente; Peiró et al., 2006). Sin embargo, los primeros resultados obtenidos para el gen de la oviductina no son concluyentes, por lo que se necesita tener más información para poder conocer si la oviductina puede explicar parte de las diferencias entre las líneas (Merchán et al., 2006).

Una vez conocido que el gen del receptor de progesterona explica al menos parte de las diferencias encontradas tanto en el número de embriones implantados como en el tamaño de camada, el siguiente paso sería conocer si existen diferencias de expresión proteica de la progesterona en los estadios tempranos de la gestación en función de los diferentes genotipos de los animales, experiencia que se está realizando en la actualidad.

Como conclusión y posibles implicaciones del primer experimento realizado en cunicultura en el que se usan técnicas moleculares, se podría indicar que el receptor de la progesterona es un gen candidato que puede explicar parte de las diferencias encontradas en dos líneas seleccionadas por capacidad uterina de forma divergente en el número de embriones implantados y en el tamaño de camada. Si estos resultados se confirmasen, se podrían genotipar las líneas actualmente seleccionadas, y que comúnmente utilizan los cunicultores a través del cruce a tres vías, con el fin de conocer el genotipo de los animales e intentar integrar esta información molecular en el ámbito de la genética cuantitativa clásica, de manera que se optimizara la respuesta genética del carácter tamaño de camada.

## BIBLIOGRAFIA

- Adams C.E. (1960)** *J. Endocrin.* 19:325-344.
- Argente M.J., Blasco A., Ortega J.A., Haley C.S., Visscher P.M. (2003)** *Genetics* 163:1061-1068.
- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Bolet G., Blasco A. (1997)** *J. Anim. Sci.* 75:2350-2354.
- Beier H.M. (2000)** *Annals of the New York Academy of Sciences* 923:9-24.
- Blasco A., Ortega J.A., Climent A., Santacreu M.A. (2005)** *J. Anim. Sci.* 83:2297-2302.
- Brew K., Dinakarpandian D., Nagase H. (2000)** *Biochim. Biophys. Acta* 1477:267-283.
- Buhi W.C. (2002)** *Reproduction* 123:355-362.
- Christenson R.K., Leymaster K.A., Young L.D. (1987)** *J. Anim. Sci.* 67:738-744.
- Gutierrez-Sagal R., Perez-Palacios G., Langley E., Pasapera A.M., Castro I., Cerbón M.A. (1993)** *Mol. Reprod. Dev.* 34:244-249.
- Hendrix E., Hewetson A., Mansharamani M., Chilton B.S. (2001)** *Endocrinology* 142:2151-2154.
- Herrler A., Krusche C.A., Beier H.M. (1998)** *Biol. Reprod.* 59:1302-1310.
- Merchán M., Peiró R., Estellé J., Sastre Y., Santacreu M.A., Folch J.M. (2004)** XII Reunión de Mejora Genética. Las Palmas. España.
- Merchan M., Peiró R., Argente M.J., García M.L., Agea I., Santacreu M.A., Blasco A., Folch J.M. (2006)** 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Puebla. Brasil. In press.
- Mocé M.L., Santacreu M.A., Climent A. (2002)** *World Rabbit Sci.* 10:89-97.
- Mocé M.L., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. (2004)** *J. Anim. Sci.* 82:68-73.
- Peiró R., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. (2004)** 8th World Rabbit Congress. Puebla. México.
- Peiró R., Merchan M., Santacreu, M.A., Argente M.J., García M.L., Agea I., Folch J.M., Blasco, A. (2006)** 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Puebla. Brasil. In press.
- Santacreu M.A. (1992)** Estimación de los parámetros genéticos de la tasa de ovulación, supervivencia prenatal y tamaño de camada en conejo. Tesis doctoral. UPV. España
- Santacreu M.A., Argente M.J., Mocé M.L., Blasco A. (2000)** 7th World Rabbit Congress. Valencia. España.
- Santacreu M.A., Mocé M.L., Climent A., Blasco A. (2005)** *J. Anim. Sci.* 83:2303-2307.



# extrona

La Investigación y Desarrollo

Jaulas ergonómicas y polivalentes  
concebidas para el  
preparadas para madres, ma

E.3 MEGA BABY 12/16



E.3 CUNI BABY

Extrona presente en todo el mundo

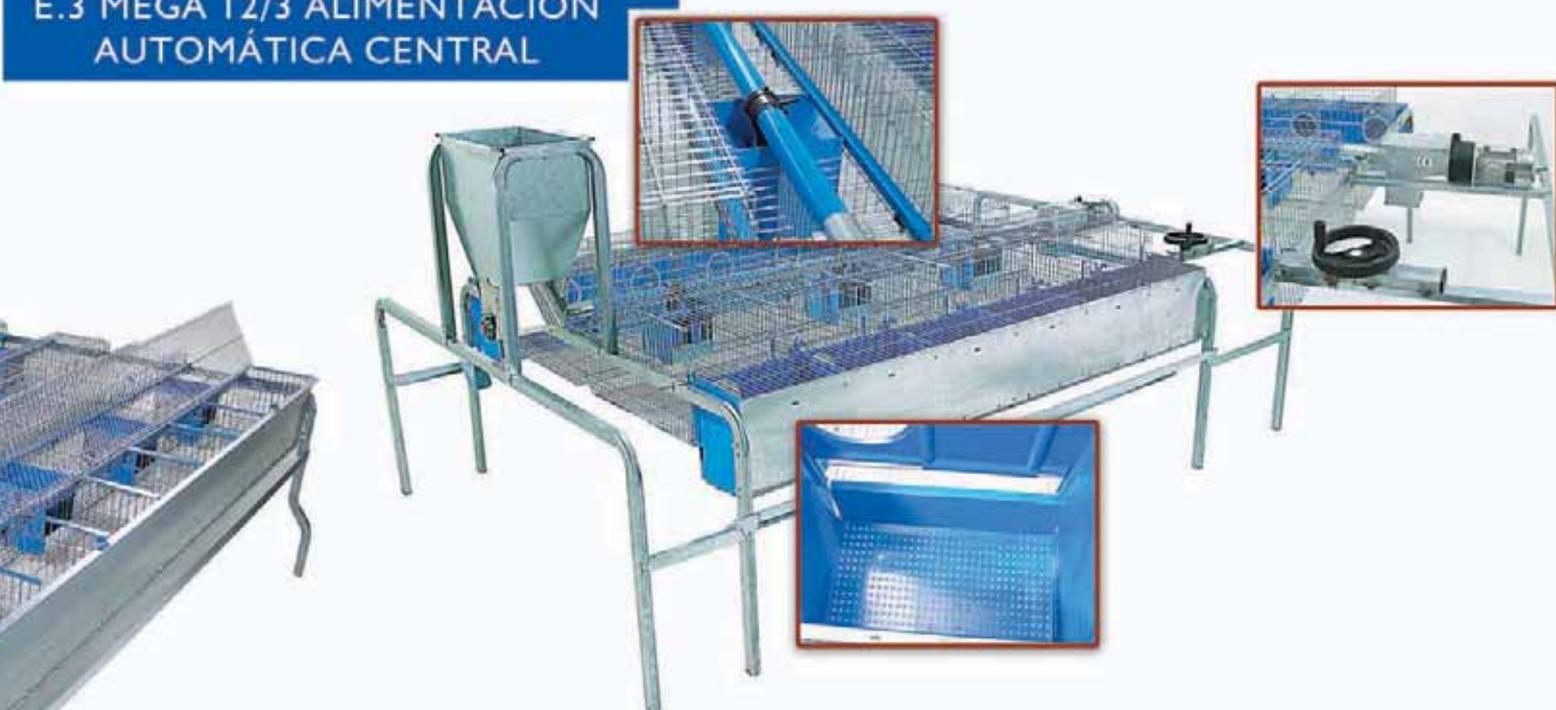
Solicitud de información y catálogo: 93 788 58 66

# 75 años de experiencia nos avalan

al servicio de la Cunicultura.

entes con y sin automatismos  
manejo en bandas,  
chos, engorde e inseminación.

E.3 MEGA 12/3 ALIMENTACIÓN  
AUTOMÁTICA CENTRAL



32/8

**CALIDAD - ECONOMÍA**  
**RENTABILIDAD**  
LA APUESTA FIRME DE EXTRONA

Especialistas en jaulas y accesorios para el montaje de granjas

Poligon Industrial "Can Mir" Ctra. de Terrassa a Viladecavalls Km. 2'800  
08232 Viladecavalls (Barcelona) Spain · Tel. + 34 93 788 58 66 fax +34 93 789 26 19  
e-mail. [ventas@extrona.com](mailto:ventas@extrona.com) · web: [www.extrona.com](http://www.extrona.com)