

TAMAÑO DE LOS BLASTOCISTOS Y PERDIDAS EMBRIONARIAS  
CUATRO DIAS POSTCOITO EN CONEJA

---

I. MOLINA; M. PLA; F. GARCIA.

---

Cátedra de Fisiogenética . E.T.S.I. Agrónomos.

---

Universidad Politécnica de Valencia. Camino de  
Vera, 14. Valencia 46022

---

INTRODUCCION

Puesto que la mortalidad embrionaria es en definitiva, junto con la tasa de ovulación, quienes condicionan la prolificidad en la coneja, son numerosos los autores que estudiaron tales pérdidas embrionarias durante las distintas etapas de la gestación (ADAMS, 1960, 1962, 1970; HAFEZ, 1964, 1968, 1969; HULOT y MATHERON, 1979, 1980, 1981; FOXCROFT y HASNAIN 1973; POUJARDIEU y VRILLON, 1973; SELME y PROD'HON, 1973; MATHERON y POUJARDIEU 1976; MATHERON y ROUVIER, 1978; MEUNIER et al., 1982; TORRES, 1982; TORRES et al., 1984; PLA, 1984). Además, algunos de estos autores (ADAMS, 1960, 1962, 1970; HAFEZ, 1964, 1968, 1969; HULOT y MATHERON, 1980; PLA, 1984) coinciden en considerar la etapa previa a la implantación como aquella en la que la cuantía de las pérdidas embrionarias es más importante. No se sabe con la misma certeza si tales pérdidas se producen durante el proceso de fecundación y tránsito oviductal, o bien durante la vida uterina previa al establecimiento de la placenta.

Por otra parte WITENBERG-TORRES (1974) y TORRES et al. (1984) observan una gran heterogeneidad en el desarrollo de los blastocistos recuperados entre los días 4 y 6 postcoito dentro de una misma hembra, sin embargo, la supervivencia de estos blastocistos viene, según dichos autores, condicionada por su tamaño, existiendo un diámetro mínimo de estos blastocistos, por debajo del cual serían incapaces de implantarse y proseguir su desarrollo. En este sentido, TORRES (1982) indica como causa de la mortalidad embrionaria previa a la implantación un ritmo de crecimiento demasiado lento de los embriones, que ocasionaría una desincronización de estos con respecto al grado de desarrollo alcanzado por el útero. Proponiendo como causas fundamentales de esta mortalidad embrionaria la calidad de los embriones y el grado de desarrollo alcanzado por las estructuras uterinas.

A este respecto, se evalúan en el presente trabajo las pérdidas que se producen hasta los 4 días postcoito (fecundación y tránsito oviductal) y se pretende establecer la existencia de relaciones entre el tamaño de los blastocistos en dicho momento y el grado de desarrollo de las estructuras uterinas y de los cuerpos lúteos, que determinarán el ambiente uterino del que dependerán los blastocistos hasta el establecimiento de sus placentas.

### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 56 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes, adaptadas a jaulas con suelo de rejilla y alojadas en condiciones de ambiente controlado con 16 horas de iluminación diaria. La entrada en reproducción se realizó a los cuatro meses y medio de edad.

Los animales fueron sacrificados a los cuatro días postcoito, extirpándoseles el aparato reproductor. Los oviductos y cuernos uterinos fueron perfundidos separadamente; para los oviductos se utilizaron 10 ml. del medio de perfusión, mientras que para los cuernos uterinos se utilizaron 30 ml; cantidades estas, que en la puesta a punto de la técnica, se comprobó eran sobradas para asegurar la recuperación de todos los blastocistos y/o oocitos presentes en cada oviducto o cuerno uterino. El medio de perfusión utilizado fue suero clorurado simple atemperado previamente en estufa (39°C), y cuyas características bioquímicas se reseñan a continuación:

por 100 ml: cloruro sódico 0.85 gr.% agua para inyección c.s.

Ion cloruro 145 mEq., Ion Sodio 145 mEq.;  
osmolaridad 291 mOsm/l; pH = 7.4.

Una vez recuperados, los blastocistos, se observaron con una lupa binocular, procediéndose a la medición de sus diámetros interno y externo; considerándose como diámetro externo del blastocisto el diámetro máximo que incluía la zona pellucida y como diámetro interno el diámetro exterior del blastocisto excluida su correspondiente zona pellucida. Esta medición se realizó a 32 aumentos, de modo que cada división de la escala acoplada al ocular y calibrada previamente con un micrometro objetivo se correspondía con 1/30 mm reales.

Los cuernos uterinos, posteriormente, se fijaron y conservaron en formalina (10%) hasta su procesado. Los ovarios se conservaron en suero clorurado simple hasta su posterior estudio en el laboratorio que no se demoró en ningún caso más de cuatro horas.

La medición del diámetro de los cuerpos lúteos y el peso luteal total se realizó siguiendo la técnica

descrita por MOLINA et al. (1986). La medición de las estructuras uterinas se realizó siguiendo la técnica descrita por PLA (1984).

Para la realización de los análisis, se utilizó el paquete estadístico BMDP (DIXON et al., 1983) implementado en el ordenador UNIVAC 5100 del Centro de Cálculo de la Universidad Politécnica de Valencia.

### RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se presentan los valores medios, coeficientes de variación y rango de variación de las variables consideradas, siendo de interés resaltar el mínimo relativamente elevado que presenta la tasa de ovulación (TO), hecho ya observado por otros autores (ADAMS, 1962; PLA, 1984; PLA et al., 1985; MOLINA et al., 1986), así como el amplio rango de variación que presentan los diámetros interno y externo de los blastocistos (DIB y DEB). Dichas variaciones en el diámetro de los blastocistos han sido también observadas por diversos autores (HAFEZ, 1964; ALLISTON, 1973; WITENBERG-TORRES, 1974; TORRES, 1982; TORRES et al., 1984).

Las pérdidas parciales (PP), estimadas como la diferencia entre el número de folículos que han ovulado y el número de blastocistos recuperados 4 días postcoito (BLAS) presentan en algún caso valores negativos dado que, como indica ADAMS (1960), la frecuencia de ovulaciones dobles en coneja está próxima al 10%. La posibilidad de un conteo erróneo de cuerpos lúteos es nula, ya que se realizó por enucleación de todos y cada uno de ellos.

De las 56 hembras que ovularon, utilizadas en el presente trabajo, se recuperaron embriones, no detectándose en ningún caso la existencia de pérdidas totales, lo que pudiera deberse a las condiciones de la

coneja cuando fue presentada al macho, pues sólo se llevaron a la monta las hembras con vulva roja, ya que la coloración pálida lleva aparejada una mayor incidencia de pérdidas totales (PLA, 1984); o bien al hecho de que, según PLA (1984) trabajando con hembras nulíparas y no nulíparas a 7, 12 y 19 días de gestación, las hembras nulíparas presentaban una menor mortalidad embrionaria total en cualquiera de los períodos considerados. Las pérdidas totales en etapas similares a las aquí estudiadas (3-7 días post-coito) ADAMS (1960) las evaluó en un 4'8%, mientras que SELME y PRUD'HON (1973) en un 10%, HULOT Y MATHERON (1980) en un 15% y PLA (1984) en un 14'28%.

En el presente trabajo, las pérdidas parciales, 4 días post-coito, representaron el 17'65% sobre el total de folículos que ovularon. Los valores estimados por diversos autores para las pérdidas parciales previas a la implantación (7 días post-coito) representaron para ADAMS (1960) un 11'4%, mientras que para HULOT y MATHERON un 21% para raza californiana y un 15% para la neozelandesa. PLA (1984) obtienen un 31'2%, mientras que GARCIA et al., (1983) un 39% de pérdidas parciales y 7 días post-coito.

En el Cuadro 2 se presentan los coeficientes de correlación entre las variables estudiadas. La tasa de ovulación (TO) está correlacionada significativamente con el número de blastocistos (BLAS) y con la cuantía de las pérdidas parciales (PP), de tal forma que a mayor TO, aumentan PP y BLAS, siendo de resaltar el bajo valor del coeficiente de correlación entre TO y BLAS, que indica la existencia de una baja relación entre el número de oocitos liberados y el número de blastocistos que finalmente acceden al útero. La escasa relación entre TO y BLAS ya fue detectada en anteriores trabajos por PLA et al., (1985) que obtuvieron un valor del coeficiente de correlación entre TO y BLAS de 0.32, que en su trabajo no alcanzó niveles de significación.

En este sentido GARCIA et al., (1983) observaron que TO ejerce un efecto negativo sobre la viabilidad embrionaria tanto absoluta como relativa a la TO, aumentando dicho efecto a medida que avanzaba la gestación hasta la placentación. Además el efecto negativo de un número elevado de ovulaciones no afectaba tanto a las pérdidas previas a la implantación como a las posteriores a ella. Dado que el coeficiente de correlación entre TO y PP no presenta un valor próximo a 1, una parte substancial de tales pérdidas que se producen en esta etapa de la progestación no son explicadas por las variaciones de la TO, es decir, son independientes de esta. A la vista del elevado coeficiente de correlación entre PP y BLAS, es evidente que -con independencia de cuales sean las causas de las pérdidas parciales- la cuantía de estas a TO constante determinarán el número de blastocistos.

Una pequeña parte de las variaciones observadas en los diámetros interno y externo de los blastocistos (DIB y DEB) -que presentan entre sí un coeficiente de correlación de 0'850\*- dependen del número de blastocistos y en consecuencia de las pérdidas parciales (PP) experimentadas durante los 4 primeros días post-coito. Dado que TO sólo está relacionada significativamente con BLAS y PP, pero no con DIB ni DEB, puede afirmarse que a TO constante, las causas que determinan la fracción de PP y por tanto BLAS, independientemente de TO son las que condicionarán en cierto grado DIB y DEB en los blastocistos supervivientes, no pudiendo aún explicar con certeza cuáles pueda ser tales causas. Aunque una posible explicación pudiera ser la observación de TORRES (1982) en el sentido de que durante esta etapa y hasta los 6 días post-coito los blastocistos de pequeño tamaño podrían inducir un retardo en el desarrollo de los blastocistos vecinos, normalmente desarrollados hasta ese momento, produciendo así una desincronización de estos respecto al grado de desarrollo del útero, y

afectando así su futura capacidad de supervivencia.

Puesto que los cuerpos lúteos han iniciado ya en esta etapa su secreción de progesterona (HILLIARD y EATON, 1971; MILLER y KEYES, 1975) y que las estructuras uterinas presentan ya un notable desarrollo en esta etapa (HENRICKS y MAYER, 1977); MOLINA et al., 1986) podría pensarse que tal desarrollo estuviera relacionado con el grado de supervivencia de los blastocistos. De hecho TORRES (1982) propone como causa de las pérdidas durante la fase previa a la implantación un marcado grado de disincronía entre el desarrollo alcanzado por los blastocistos al acceder al útero y el grado de desarrollo de éste, proponiendo como causa de ello un ritmo de crecimiento demasiado lento de los embriones, tal vez debido a que los folículos que respondieron al estímulo ovulatorio no estaban suficientemente maduros, dando oocitos de escasa calidad y asimismo embriones defectuosos con un ritmo de crecimiento demasiado lento. Por ello se calcularon los coeficientes de correlación del peso luteal total y diámetro medio de los cuerpos lúteos, así como de las estructuras uterinas, con las variables hasta ahora consideradas. Dichos coeficientes de correlación se presentan en el Cuadro 3, en el que se observa que el peso luteal total (PCL) sólo está correlacionado positivamente con TO. El diámetro de los cuerpos lúteos (DCL), sin embargo presenta coeficientes de correlación positivos tanto con DIB como con DEB, aunque dicho efecto positivo no cabe pensar que se produzca a través de una reducción de PP y aumento de BLAS, dado que los coeficientes de correlación de DCL con PP y con BLAS no son significativamente distintos de cero.

En cuanto a los parámetros uterinos superficie al corte del miometrio (SMIO) y altura de las crestas endometriales (MUCOSA), en ningún caso sus coeficientes de correlación con el resto de las variables alcanzan

niveles de significación. La altura de las glándulas endometriales (GLAN) sí que está correlacionada positivamente con DIB y DEB, pero no con PP o BLAS, por lo que cabe afirmar que el efecto de GLAN sobre DIB y DEB es independiente del que ejerce PP, a través de BLAS sobre ellos. Además, puesto que el coeficiente de correlación calculado entre DCL y GLAN es  $r = 0.4741^{**}$ , puede proponerse que el efecto de DCL sobre DIB y DEB se ejerce a través de un mayor desarrollo de GLAN, que en ningún caso se debería a variaciones en la tasa de ovulación, puesto que TO está incorrelacionada tanto con DCL y GLAN como con DIB y DEB. Esto último pudiera deberse al valor mínimo, relativamente elevado de la tasa de ovulación, que permitiría de inicio un grado de desarrollo de las glándulas endometriales similar al alcanzado para valores de tasa de ovulación más elevados, lo que está de acuerdo con los resultados obtenidos por MOLINA et al., (1986).

En el Cuadro 4 se presentan las ecuaciones de regresión resultantes de los análisis de regresión stepwise, tanto para DIB como para DEB en los que se incluyen de inicio como variables independientes: BLAS, PP, DCL y GLAN. En dichas ecuaciones se comprueba que la variable GLAN es la que explica más parte de la variación observada en DIB y DEB. La acción de DCL sobre DIB y DEB se ejerce a través de GLAN; observándose que el efecto de GLAN es en gran medida independiente del ejercido bien por PP o por BLAS respectivamente sobre DIB y DEB. La fracción de la variación total explicada por las variables consideradas es mayor en el caso de DEB que en el de DIB. En cualquiera de ambas variables dependientes, es manifiesta la existencia de otras causas de variación, con efecto importante en su conjunto tanto sobre DIB como sobre DEB, dado el bajo valor alcanzado por el coeficiente de determinación total ( $R^2$ ).

## CONCLUSIONES

1. Cuanto mayor es el diámetro de los cuerpos lúteos, mayor desarrollo alcanzan las glándulas endometriales, observándose que dicho desarrollo, independientemente de la tasa de ovulación, influye incrementando el diámetro interno y externo de los blastocistos.
2. El efecto que ejerce un mayor desarrollo de las glándulas endometriales sobre los diámetros interno y externo de los blastocistos es independiente del ejercido por las pérdidas o por el número de blastocistos.
3. El valor mínimo de la tasa de ovulación observado, permite un grado de desarrollo de las glándulas endometriales similar al alcanzado para valores más elevados de la tasa de ovulación.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido subvencionado por la C.A.I.C.Y.T. como parte del proyecto n° 3192-83.

---

CUADRO 1

Medias (M) y coeficientes de variación (CV) y rango de variación de las variables consideradas: TO (Tasa de ovulación), BLAS (número de blastocistos), DIB (diámetro interno de los blastocistos), DEB (diámetro externo de los blastocistos) y PP (pérdidas parciales).

	UNIDADES	M	CV	VALOR MINIMO	VALOR MAXIMO
TO	número	10.71	0.1923	7.00	16.00
BLAS	número	8.82	0.3050	2.00	16.00
DIB	divisiones	9.65	0.3770	2.80	17.70
DEB	divisiones	15.41	0.1825	7.60	20.77
PP	número	1.89	1.4164	-2.00	12.00

---

CUADRO 2

Matriz de correlaciones entre las variables  
definidas en el texto.

	TO	BLAS	DIB	DEB	PP
TO	1.000				
BLAS	0.388**	1.000			
DIB	0.008	0.291*	1.000		
DEB	0.124	0.453**	0.850**	1.000	
PP	0.380**	-0.706**	-0.286*	-0.370**	1.000

\*\* Valores significativos al 99%

\* Valores significativos al 95%

---

CUADRO 3

Correlaciones de las variables definidas en el texto con las correspondientes a las características de los cuerpos lúteos: PCL (peso total del tejido luteal), DCL (diámetro de los cuerpos lúteos) y a las de las estructuras uterinas: SMIO (superficie al corte del miometrio), MUCOSA (altura de las crestas endometriales) y GLAN (altura de las glándulas endometriales).

	PCL	DCL	SMIO	MUCOSA	GLAN
TO (número)	0.446**	0.063	0.148	-0.127	0.066
BLAS (número)	0.150	-0.002	0.031	-0.090	0.048
DIB (divis.)	0.018	0.279*	0.051	0.075	0.401**
DEB (divis.)	0.051	0.262*	0.030	0.103	0.377**
PP (número)	0.192	0.050	0.082	-0.008	0.003

\*\* Valores significativos al 99%

\* Valores significativos al 95%

#### CUADRO 4

Ecuaciones de regresión para los análisis de regresión stepwise tanto para DIB (diámetro interno de los blastocistos) como para DEB (diámetro externo de los blastocistos); variables independientes: BLAS (número de blastocistos), PP (pérdidas parciales), DCL (diámetro de los cuerpos lúteos), GLAN (altura de las glándulas endometriales).

DIB = 5.5785 + 1.1192 GLAN - 0.4032 PP			R <sup>2</sup>
R <sup>2</sup>	0.1607	0.0864	0.2470
DEB = 8.0615 + 0.7705 GLAN + 0.4554 BLAS			--
R <sup>2</sup>	0.2050	0.1267	0.3316

#### RESUMEN

Se utilizaron 56 conejas, de formato medio, nulíparas gestantes, sacrificadas 4 días postcoito. Se estudió el desarrollo de sus estructuras ováricas y uterinas, así como las características de los blastocistos recuperados y la cuantía de las pérdidas parciales. Se observa que el diámetro de los cuerpos lúteos determina un mayor desarrollo de las glándulas endometriales, que a su vez determina un incremento de los diámetros interno y externo de los blastocistos, siendo este independiente de las pérdidas parciales o del número de blastocistos presentes en ese momento. Se comprueba que el valor mínimo de la tasa de ovulación en esta especie permite un desarrollo de las glándulas endometriales similar al que se obtiene para valores más elevados de ésta.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADAMS, C.E., 1960. Studies on prenatal mortality in the rabbit: The amount and distribution of loss before and after implantation. J. Endocrin., 19: 325-344.
- ADAMS, C.E., 1962. Studies on prenatal mortality in the rabbit: The effect of transferring varying numbers of eggs. J. Endocrin., 24: 471-490.
- ADAMS, D.E., 1970. Maintenance on pregnancy relative to the presence of few embryos in the rabbit. J. Endocrin., 48: 243-294.
- ALLISTONS, C.W.; PARDEE, N.R., 1973. Variability of embryonic development in the rabbit al 19 to 168 hours after mating. Lab. Animal Science, 23: 665-670.
- DIXON, W.J.; BROWN, M.B.; ENGELMAN, L.; FRANE, J.W.; HILL, M.A.; JENNRICH, R.I. y TOPOREK, J.D., 1983. Statistical software. University of California Press.
- GARCIA, F.; BASELGA, M. y PLA, M., 1983. Mortalidades embrionarias y fetal en las distintas etapas de la gestación en el conejo de carne. Anales del I.N.I.A., 18: 11-27.
- HAFEZ, E.S.E., 1964. Implantation capacity and prenatal development in the rabbit as affected by maternal environment. 51th. Int. Congr. Anim. Reprod. A.I. Trendo. Vol. III: 174-180.
- HAFEZ, E.S.E., 1968. Some maternal factors cusing port-implantation mortality in the rabbit. VI Congr. Reprod. Insem. Artif. Paris. Resumés, 92.

- HAFEZ, E.S.E., 1969. Fetal survival in undercrowded on overcrowded unilaterally pregnant uteri in the rabbit. VI Congr. Reprod. Anim. I.A. Paris. Vol. I, 575.
- HENRICKS, D.M. y MAYER, D.T., 1977. Gonadal hormones and uterine factors. En Reproducción in Domestic Animals. Cole, M.H. y Cupps, P.T. (ed.) Academic Press. New York.
- HILLIARD, J. y EATON, L.W., 1971. Estradiol 17 $\beta$ , progesterone and 20 $\alpha$ -hydroxy-pregn-4-en-3-one in rabbit ovarian venous plasma. II. From mating through implantation. Endocrinology, 89: 522.
- HULOT, F., MATHERON, G., 1979. Analyse des variations genetiques entre trois races de lapins de la taille de portée et de ses composantes biologiques en saillie post partum. Ann. Genet. Sel. Anim. 11: 53-77.
- HULOT, F. y MATHERON, G., 1980. Comparaison de la reproduction de lapins de deux genotypes, effects de l'age et de la saison. II. Congreso Mundial de Cunicultura. Vol. I., 293.
- HULOT, F. y MATEHRON, G., 1981. Effects du genotype, de l'age et de la saison sur les composantes de la reproduction chez la lapine. Ann. Genet. Sel. Anim., 13: 131-150.
- MATHERON, G. y POUJARDIEU, B., 1976. Heterosis pour quelques caracteres de reproduction chez la lapine. Analyse de plans de croisement. Bull. Techn. Dep. Genet. Anim., 24: 69-77.

MATHERON, G y ROUVIER, R., 1978. Etude de la variation genétique dans la croisement simple entre 6 races de lapins pour les caracteres de prolificité, taille et poids de portée au sevrage. 2<sup>es</sup> Journées de la Recherche Cunicole. Communication n° 22, 4 et 5 avril. Toulouse.

MEUNIER, M.; HULOT, F.; POIRIER, J.C. y TORRES, S., 1982. Relation entre la secretion de LH et de FSH au moment de l'ovulation ou la mortalite embryonnaire precoce. 3<sup>emes</sup> Journees de la Recherche Cunicole. Decembre 1982. Paris. Communication 14.

MILLER, J.B. y KEYES, P.L., 1975. Progesterone syntesis in developing rabbit corpora lutea in the absence of follicular estrogens. Endocrinology, 97: 83-90.

MOLINA, I., PLA, M. y GARCIA, F., 1986. Poblaciones de folículos antrales en función del comportamiento de monta en conejas: utilización de un método simple para la medición de folículos. I.T.E.A. (Remitido).

MOLINA, I., PLA, M. y GARCIA, F., 1986. Estructuras ováricas y uterinas cuatro días postcoito en conejas gestantes. I.T.E.A. (Remitido).

PLA, M., 1984. Modelos biológicos de caracteres reproductivos en el conejo de carne. Tesis doctoral. U.P. de Valencia.

PLA, M.; BASELGA, M.; GARCIA, F. y DELTORO, J., 1984. Categorías foliculares asociadas al comportamiento de monta en el conejo de carne: efecto sobre las estructuras uterinas. III Congreso Mundial de Cunicultura. Roma. Actas, Vol. II: 446-452.

- PLA, M.; ESTANNY, J.; MOLINA, I. y GARCIA, F., 1985. Efectos de la tasa de ovulación sobre el grado de desarrollo del útero, 7 días postcoito en conejas gestantes. X Symposium de Cunicultura. Barcelona. 45-51.
- POUJARDIEU, B.; VRILLON, J.L., 1973. Variation de la productivité numérique au sevrage et de ses composantes entre genotypes de lapines croisées et de race pure. J. Recher. avic. et cunic. Decembre 1973, pp.: 89-93. ITAVI.
- SELME, M y PROD'HON, M., 1973. Comparison in different seasons of the year, of ovulation and implantation rates and embryonic survival in lactating does mated at the post-partum oestrus and in control does. En Journées de Recherches avicoles et cunicoles. Institute Technique de l'aviculture 1974. pp.: 55-58.
- TORRES, S., 1982. Etude de la mortalité embryonnaire chez la lapine. 3<sup>èmes</sup> Journées de la Recherche Cunicole. Decembre 1982. Paris. Communication 15.
- TORRES, S., HULOT, F. y MEUNIER, M., 1984. Etude compare du developement et de la mortalité embryonnaire chez deux genotypes de lapines. Congreso Mundial de Cunicultura. Roma 1984. Vol. II. 471-425.
- WINTENBERGER-TORRES, S., 1974. Relation entre la taille des blastocystes de lapine a l'implantation et la survie embryonnaire. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 14: 41-52.

