

DIFERENCIAS DE FERTILIDAD EN RATONES SELECCIONADOS POR PESO

S. Bernardi¹, G. Brogliatti², M. I. Oyarzabal³

¹Cátedra de Histología II y Embriología Especial, Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de Rosario

²Centro de Investigaciones Reproductivas Pérez Companc - Escobar

³Cátedra de Producción Animal II, Facultad de Ciencias Veterinarias, CIUNR

RESUMEN: La selección direccional de un carácter de interés económico puede ocasionar deterioro en otros caracteres comprometidos con la aptitud biológica. Con el objetivo de evaluar si la selección divergente para peso corporal realizada en dos líneas, originadas a partir de una población testigo de ratones CF1, había modificado caracteres reproductivos, se estudió: edad de la apertura vaginal y primer estro, duración del ciclo estral, tamaño de camada, número de pariciones e intervalo parto-parto. La duración del ciclo estral de las líneas seleccionadas fue similar a la de la población testigo, no ocurrió lo mismo con el resto de las variables. Además, se observó que la población testigo pare más veces con intervalos interpartos menores, tiene un número mayor de crías y el tamaño de camada no decae rápidamente con el transcurso de las pariciones. La apertura vaginal es un indicador de la llegada a la madurez sexual, está asociada positivamente con el peso a la misma edad en la población testigo. Esta asociación se invierte en las líneas seleccionadas. Los resultados evidenciaron que la selección por peso modificó caracteres reproductivos, y como consecuencia, disminuyó la producción en gramos evaluada a nivel poblacional y a lo largo de la vida reproductiva.

Palabras Clave: selección divergente, peso corporal, caracteres reproductivos, ratones

REPRODUCTIVE DIFFERENCES IN MICE SELECTED FOR BODY WEIGHT

ABSTRACT: The directional selection of a character of economic interest can produce an impairment in other characters, mainly in those highly involved in the biological fitness, such as reproductive characters. With the objective of evaluate if the two way selection for body weight had altered reproductive characters in two lines, originated from a CF1 mice randombred population without selection, the following characters were studied: age at vaginal opening and at first estrus, estrous cycle duration, litter size, parturition number and calving interval. The response to weight selection was evident, mainly, because of a significant weight increase of the upward selection animals. The estrous cycle duration was similar in the studied lines, but the others variables showed different behaviours. When studying the reproductive behavior, it was observed that the control population has more parturitions and the calving intervals are shorter, their litter size is bigger and does not decrease within parturitions. Vaginal opening is an indicator of sexual maturity and correlates positively with body weight at the same age in the control line, but it does not correlate with body weight at 49 days, that was the selected character. These correlations are inverted in the selected lines. The results showed that the body weight selection alters the reproductive characters, and as a consequence, decreases the production in grams when an evaluation at population level and throughout their reproductive life is done.

Key Words: two way selection, body weight, reproductive characters, mice

Fecha de recepción: 05/12/98

Fecha de aceptación: 02/09/99

Dirección para correspondencia:

María Inés Oyarzabal. Facultad de Ciencias Veterinarias UNR. Ov. Lagos y Ruta 33 - 2170 Casilda, Argentina Telfax: 0341-422050 E-mail: moyarزاب@fveter.unr.edu.ar

INTRODUCCION

Para el mejoramiento genético animal se tendió durante mucho tiempo a seleccionar animales para alto peso, alta tasa de crecimiento, alta producción de leche, etc. Esta selección direccional trajo como consecuencia el deterioro de otros caracteres, entre otros, problemas reproductivos y menor resistencia a enfermedades, obteniéndose como resultado una menor producción si se la evalúa a nivel poblacional (1, 2, 3, 4). Tal es así, que hoy ya no se desea un animal excesivamente grande y se duda que una vaca de muy alta producción de leche, al menos en condiciones de pastoreo, sea la más productiva por unidad de superficie (5).

La realización de experimentos que evalúen los efectos de la selección en animales de interés económico se hace difícil debido a la longitud de los intervalos generacionales, los tiempos y costos son elevados. Una alternativa es utilizar modelos experimentales en animales de laboratorio cuyos resultados, si bien no son totalmente extrapolables, conducen a incrementar el conocimiento sobre los mecanismos genéticos básicos involucrados y a la realización de planes de mejoramiento con mejor criterio.

Desde los experimentos realizados por Goodale en 1938 (6) que probaron la posibilidad de seleccionar por peso corporal en el ratón, son numerosos los trabajos publicados con respecto a límites de la selección, interacción genotipo-ambiente, efectos maternos, consecuencias de la selección, respuestas correlacionadas, etc. (7, 8, 9, 10, 11), cuyos resultados generalmente se han comprobado más tarde en animales de interés económico.

En la Facultad de Ciencias Veterinarias (U.N.R.), a partir de la generación 3 de una población de ratones CF1 (**t**), se fundaron dos líneas de selección divergente para peso corporal a los 49 días de edad (**s**: negativa; **s'**: positiva). Estas líneas difieren significativamente para el carácter seleccionado, siendo **s'** la más pesada, manteniéndose **s** más parecida a **t** (18). Estos genotipos diferentes permiten la realización de estudios genéticos relacionados con la respuesta a la selección artificial y sus consecuencias.

En ratones, la apertura del orificio vaginal es uno de los primeros síntomas de la llegada a la pubertad de las hembras. Puede ocurrir temprano, por ej., a los 24 días de edad en la cepa C57Bl/6J, y coincidir con el primer estro, u ocurrir unos días antes que éste (12). El momento en que se produce depende de factores ambientales, de la cepa, línea, etc. El ciclo estro se repite a intervalos regulares de 4 a 6 días (12, 13) a lo largo de la vida reproductiva, dividiéndose en proestro, estro, metaestro y diestro, aunque algunos autores llegan a dividirlo

hasta en 13 etapas. El estro postparto tiene lugar dentro de las 24 h posteriores al parto. La duración de la gestación oscila entre 19 y 21 días.

Existe variabilidad en los patrones mencionados. Al comparar cepas o practicar selección artificial, diversos autores (10, 14, 15, 16, 17) encontraron diferencias en distintos componentes de la fertilidad en ratones, por ej., edad media de la apertura vaginal, longitud del diestro, tamaño de camada, porcentaje de partos.

Con el objetivo de evaluar consecuencias de la selección practicada para peso corporal en las líneas mencionadas se evaluaron caracteres relacionados con fertilidad que no fueron seleccionados en **t**, **s** y **s'**: edad de la apertura vaginal y primer estro, duración del ciclo estro y seguimiento de la vida reproductiva durante 220 días a partir del primer estro. Estas variables se asociaron con peso corporal para el cual se practicó selección divergente.

MATERIALES Y METODOS

Animales experimentales:

Se utilizaron hembras CF1 pertenecientes a:

- una población testigo (**t**) sin selección, con $N_e \cong 40$
- un par de líneas de selección divergente para peso a los 49 días de edad, con $N_e < 8$, **s'**: positiva, **s**: negativa (18).

A los animales se les suministró *ad-libitum* agua y un alimento comercial para ratón con 25% de proteínas. El bioterio se mantiene a una temperatura ambiente media de 21 ± 2 °C, con luz natural. El macho permaneció con la hembra durante las sucesivas preñeces y lactancias en cajas individuales, a excepción de los casos en que especialmente se menciona. Los animales se destetaron y se identificaron (sistema australiano) a los 21 días de edad y luego se alojaron en grupos de 6 a 7 por caja con cama de viruta, separados por sexo.

Edad de apertura vaginal y primer estro

Con el objetivo de probar si existen diferencias entre las tres líneas para la edad de apertura vaginal se controló diariamente el estado de los labios vulvares desde el destete (21 días) hasta el día en que se observaron totalmente separados registrándose la edad en ese momento. Desde ese día se realizaron muestreos vaginales cada 24 horas hasta detectar el primer estro mediante citología vaginal exfoliativa (19, 20). Para probar si la apertura vaginal es un indicador de llegada a la pubertad se compararon la edad de apertura vaginal (EAV) y la edad al primer estro (EPE).

Ciclo estral

Mediante la técnica de citología exfoliativa se determinaron las fases del ciclo estral en hembras adultas, realizándose muestreos cada 12 horas durante el número de días necesario a fin de detectar al menos dos estros. Una vez fijadas, las preparaciones, se colorearon con hematoxilina de Harris y eosina para su observación al microscopio (19, 20).

Seguimiento de la vida reproductiva

Se eligieron 21 hembras (7 por cada una de las líneas) que tuvieran distintas edades de apertura vaginal (entre 24 y 35 días), se comprobó que estuvieran en estro y se les dio servicio con machos de la misma línea que se había probado eran fértiles. Los machos permanecieron con las hembras hasta detectar preñez por inspección ocular, momento en el cual se los retiró y se colocó en su lugar machos más jóvenes de la misma línea. A estas hembras se las siguió durante los 220 días posteriores al primer estro registrándose variables de fertilidad y de producción.

Variables estudiadas

- edad de apertura vaginal (EAV)
- edad al primer estro (EPE)
- peso en gramos a la apertura vaginal (P_{AV})
- peso en gramos a los 49 días de edad (P_{49})
- tamaño de camada al nacimiento (TC)
- tamaño de camada al destete (TCD)
- coeficiente de fertilidad de primera parición:
 $CF = (7 \times TC) / (D + 21)$, donde D es el número de días transcurridos desde el armado de la pareja hasta la parición
- peso de camada al destete en gramos (PCD)
- número de pariciones por hembra en 220 días (PAR)
- número de crías producidas por hembra en 220 días (C)
- coeficiente de supervivencia por línea en 220 días:
 $CS = \frac{\sum TCD \times 100}{\sum TC}$
 \sum indica la suma para todas las pariciones de todas las hembras de una línea
- gramos destetados por hembra en 220 días:
 $G = Z \times PCD$
- intervalo parto-preñez medio por línea:
 $IPP = \frac{[220 \text{ días} - (\overline{PAR} \times 21)]}{\overline{PAR}}$
donde 21 es la duración en días de la gestación y \overline{PAR} es el promedio de pariciones por hembra por línea.

Para probar si existían diferencias en las distribuciones de la EAV de las 3 líneas se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las asociaciones estimadas son lineales. Las diferencias entre las medias de las variables de ferti-

dad y producción se probaron mediante contrastes lineales ortogonales: t vs. ($s + s'$), y , s vs. s' (21).

RESULTADOS

Apertura vaginal y primer estro

En el gráfico II se observan las distribuciones de frecuencias de la EAV para cada una de las tres líneas cuyos pesos medios por generación figuran en el gráfico I. La distribución de s' difiere significativamente de la de t ($p < 0,001$) y de la de s ($p < 0,05$). El rango de la EAV disminuyó en la línea seleccionada para alto peso con respecto a la testigo, corriéndose a la izquierda la distribución de la línea positiva comparada con la negativa.

De un total de 96 hembras pertenecientes a las tres líneas, al comparar la EAV y la EPE, en el 81% de ellas coincidieron ambas edades, en el resto la EPE fue superior a lo sumo en un día con respecto a la EAV.

Se estimaron los coeficientes de correlación entre EAV y peso que fue el carácter seleccionado, cuyos valores se muestran en la tabla 1. No se encontró asociación entre EAV y coeficiente de fertilidad de primera parición.

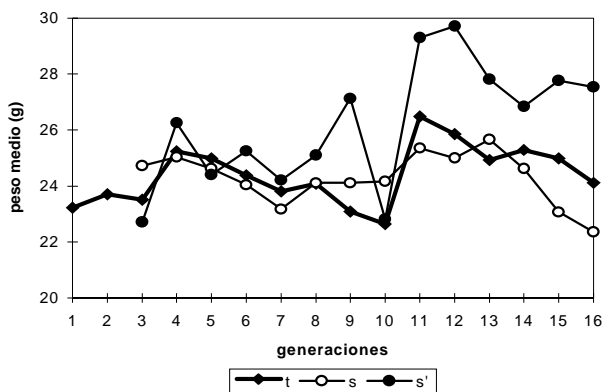


Gráfico I. Evolución del peso medio de hembras Graphics I. Evolution of the female mean weight

Ciclo estral

La duración del ciclo estral en t , s y s' fue de 3 a 4 días, debiéndose esta variación a diferencias en la fase diéstrica. La tipología celular observada y la duración de los distintos períodos del ciclo fueron las siguientes:

proestro: duración aproximada 12 horas; escasos elementos celulares, células superficiales acidófilas y basófilas nucleadas, algunas células intermedias: escaso mucus y leucocitos.

estro: duración aproximada 24 horas; abundantes células superficiales acidófilas nucleadas y anucleadas; no se encontraron otros elementos.

metaestro: duración aproximada 6 horas; predominio de mucus y leucocitos; abundancia de células intermedias, basales y parabasales.

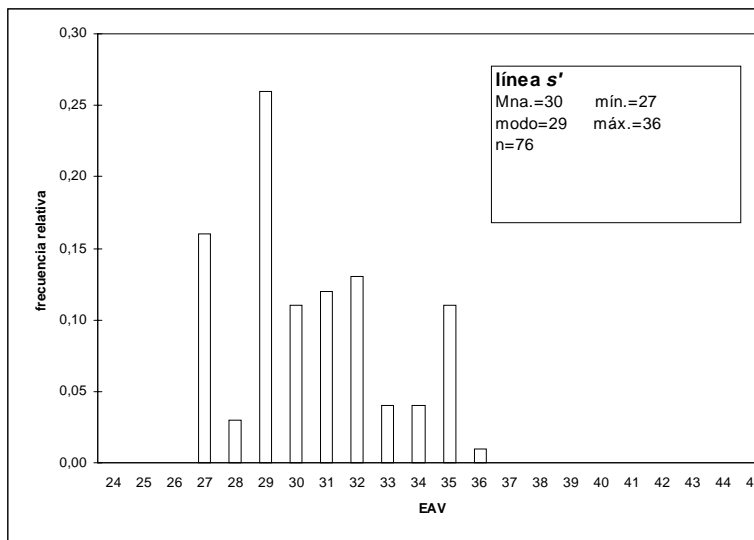
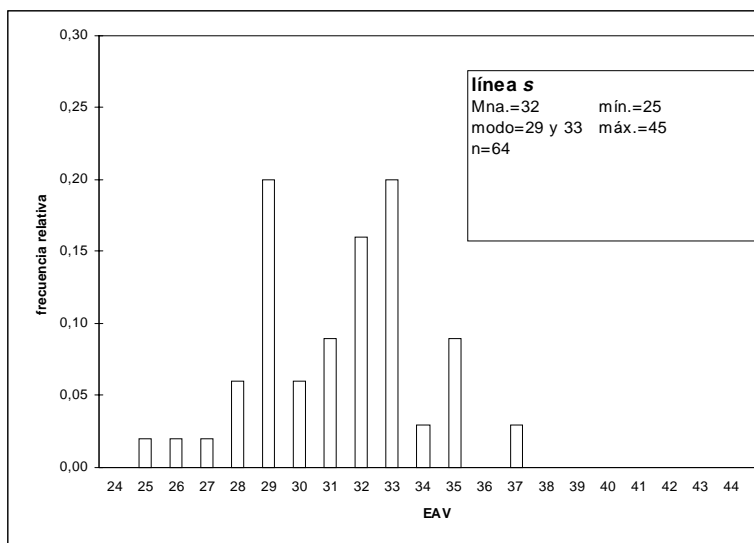
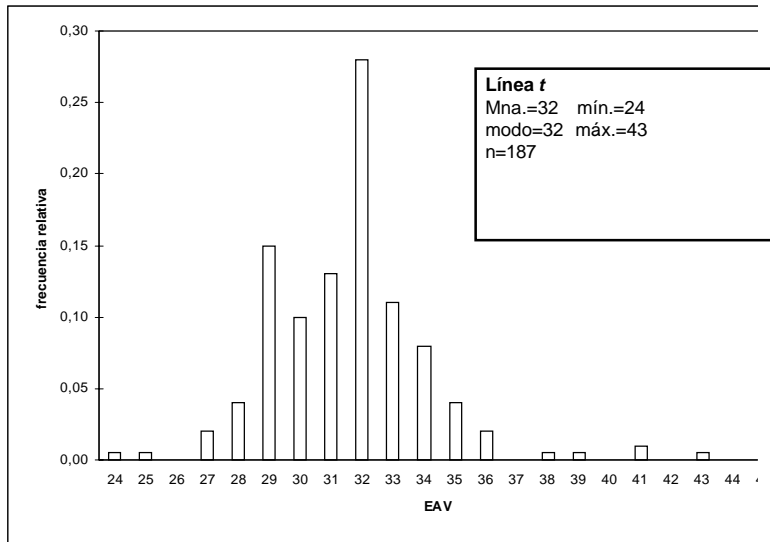


Gráfico II. Distribución de la edad de apertura vaginal por línea
 Graphics II. Vaginal opening age distribution by line

Tabla 1. Asociación entre edad de apertura vaginal y peso

Table 1. Correlation coefficients between vaginal opening and body weight

Línea	r(EAV-P ₄₉)	r(EAV-P _{AV})
s	-0,31#	0,30n.s.
s'	-0,31###	0,11n.s.
t	-0,03n.s.	0,51###

(# p<0,05; ## p<0,01)

diestro: duración aproximada 24 a 48 horas; células basales y parabasales, abundante cantidad de leucocitos y mucus.

Seguimiento de la vida reproductiva

En la tabla 2 figuran los promedios por línea para las variables de fertilidad y producción estudiadas, correspondientes al seguimiento de los 220 días posteriores al primer servicio.

Se observó que el tamaño de camada decae más rápidamente en las líneas seleccionadas que en la testigo en relación al número de parición. De las hembras estudiadas, sólo algunas pudieron seguirse hasta el final de su vida reproductiva, en estos casos el número máximo de pariciones observadas fue: **t**: 12, **s**: 8, **s'**: 9.

Si se considera la producción por hembra de la línea **t**, medida en \bar{G} , como 100%, cada hembra **s'** produce en 220 días el equivalente al 82% de una **t**, y cada hembra **s** el 43%. Esto significa que para alcanzar la misma producción que una hembra **t**, se necesitan 1,2 hembras **s'**, o 2,3 hembras **s**.

Los coeficientes de correlación de la EAV con las variables estudiadas figuran en la tabla 3.

DISCUSIÓN

La longitud del ciclo estral fue similar en las líneas estudiadas. No ocurrió lo mismo con la EAV, el número de crías, el intervalo interpartos y el número de pariciones que ponen en evidencia diferencias significativas de fertilidad en estas líneas donde no se seleccionaron los caracteres mencionados.

En las líneas seleccionadas se modificó la distribución de la EAV (Gráf. II), en la de alto peso disminuyó la edad más frecuente, y en la de bajo peso se evidenciaron dos grupos: uno de edad más temprana y otro de edad más tardía. Como en estas líneas la EAV es un indicador de llegada a la madurez, dado que las diferencias entre EAV y EPE en un bajo porcentaje de hembras, son a lo sumo de un día, se puede decir que en **s'** se produjo un adelantamiento de la madurez sexual, y que en **s** hay hembras precoces y otras de madurez tardía.

En **t**, de la cual derivan las líneas seleccionadas, no se encontró asociación entre EAV y el carácter seleccionado (P₄₉), y sí la hubo con P_{AV}, indicando que a mayor peso corporal a edad temprana, la precocidad es menor. En las líneas seleccionadas se alteran estas asociaciones, no la hay con P_{AV} y es negativa con P₄₉. Esta última, sin embargo, a pesar del significado estadístico, toma un valor relativamente bajo (Tabla 1).

Las correlaciones entre EAV y P_{AV} y EAV y P₄₉ en **t** fueron similares a las encontradas por Eisen (22) en una población control: r(EAV-P₄₂) = -0,31 n.s.; r(EAV-P_{AV}) = 0,66 p<0,05, donde P₄₂ fue el carácter seleccionado.

Al comparar las líneas, **s** y **s'** difieren en los promedios por parición (TC, TCD y PCD), pero no se encontraron diferencias entre **t** y las líneas seleccionadas. En cambio, al compararlas a lo largo de los 220 días, **t** supera a ambas

Tabla 2. Estimaciones por línea de caracteres productivos y reproductivos

Table 2. Productive and reproductive characters estimations by line

línea	por parición			PAR	\bar{C}
	\bar{TC}	\bar{TCD}	\bar{PCD}		
t	9,11	7,48	86,12	7,28	54,5'
s	5,35 *	3,64 *	53,47 *	5,17 *	22,1'
s'	8,60	7,56	112,13	4,86	37,1'

(* p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001)

Tabla 3. Asociación entre edad de apertura vaginal y caracteres productivos y reproductivos
 Table 3. Correlation coefficients between vaginal opening age and productive and reproductive characters

	<i>t</i>	
r(EAV- Σ TC)	-0,36 n.s.	0,77 †
r(EAV- Σ TCD)	-0,16 n.s.	0,76 †
r(EAV-n° de pariciones)	-0,19 n.s.	0,68 †
r(EAV- Σ PCD)	-0,31 n.s.	0,82 †

(* p<0,05; ** p<0,01; n.s. no signifi

en el número de pariciones, número de crías y tiene un menor IPP, todo esto hace que una hembra *t* produzca a lo largo de su vida productiva más gramos aún que *s'*, línea en la cual los individuos son más pesados.

La EAV está asociada positivamente con tamaño de camada, al nacimiento y al destete, y con el total de gramos destetados a lo largo de los 220 días en las líneas seleccionadas, lo que no fue así en *t*. Por lo tanto, la EAV podría ser también un indicador del tamaño de camada y de la producción total en *s* y *s'*, a mayor EAV, mayor TC, TCD y Σ PCD (Tabla 3).

Analizando los resultados de primera parición, en un trabajo anterior (18) demostraron que la población sin selección de peso producía más gramos por cada gramo mantenido en reproducción, atribuible a mayores coeficientes de fertilidad. Al estudiar el comportamiento de la vida reproductiva se demuestra que la población *t* es capaz de producir regularmente y en forma continuada: da un número de crías significativamente mayor, pare más veces con intervalos interpartos menores y el tamaño de camada no decae rápidamente si se la compara con las seleccionadas. Esta situación provoca una producción en gramos totales significativamente mayor (Tabla 2).

Luxford y col. (15) obtuvieron resultados similares, si bien seleccionaron para mayor tamaño de camada al nacimiento, observaron que las líneas seleccionadas produjeron significativamente menos camadas que la control, con un intervalo mayor entre primera y segunda parición. Además, el peso destetado total a lo largo de la vida de la hembra en la línea control fue mayor que en las seleccionadas.

Al seleccionar peso o fertilidad, se producen modificaciones en el carácter no seleccio-

nado, pero las asociaciones entre ambos no son siempre en el mismo sentido. Bünger y col. (23) seleccionaron para mayor peso corporal a los 42 días de edad en una población no endocriada de ratones y encontraron que el tamaño de camada se redujo. Lo atribuyen a una mayor presión de selección en contra de las camadas grandes cuyos individuos tienen pesos menores y por lo tanto no se seleccionarían. A partir de una población de ratones CF1 de cría libre, Gion y col. (24) fundaron líneas para evaluar distintos métodos de selección con el objetivo de aumentar el tamaño de camada. Encontraron respuesta a la selección y también aumento del peso después de 13 generaciones.

En conclusión, los resultados obtenidos muestran que la selección direccional por peso modificó caracteres reproductivos, y aún cuando se persigue el objetivo de aumentar los gramos producidos, se obtiene como respuesta una menor producción, evidenciándose la importancia de la fertilidad en producción animal. Además, pueden lograrse efectivamente animales con pesos mayores, pero si se analiza a nivel poblacional, un peso intermedio permite una mayor producción, y un costo menor de alimentación y de reposición, dado que se necesitará mantener un menor número de hembras. Estos resultados sugieren la importancia de realizar un seguimiento permanente de caracteres productivos y reproductivos en animales de interés económico cuando están sujetos a selección direccional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Méd. Vet. Fernando Vasquez la valiosa colaboración prestada en la determinación de las etapas del ciclo estral.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bonczek RR, Richardson DO, Moore ED, Miller RH, Owen JR, Dowlen HH, Bell BR. Correlated responses in reproduction accompanying selection for milk yield in Jerseys. *J Dairy Sci* 1992; 75: 1154-1160
2. Hageman WH, Shook GE, Tyler WJ. Reproductive performance in genetic lines selected for high or average milk yield. *J Dairy Sci* 1991; 74:4366-4376
3. Dunklee JS, Freeman AE, Kelley DH. Comparison of Holsteins selected for high and average milk production. 2 - Health and reproductive response to selection for milk. *J Dairy Sci* 1994; 77: 3683-3690
4. Molinuevo HA. Lo principal de la investigación en la genética zootécnica desarrollada en el INTA Balcarce. *Mendeliana* 1994; 11(1): 52-55
5. Molinuevo HA. Selección genética de bovinos para carne y lecheros en sistemas de pastoreo. Actas del 22º Congreso Argentino de Producción Animal, Río Cuarto. 1998.
6. Goodale HD. A study of the inheritance of body weight in the albino mouse by selection. *J Hered* 1938, 29: 101-112
7. Roberts RC. Some contributions of the laboratory mouse to animal breeding research. Part I. *Animal Breeding Abstracts* 1965 a; 33 (3): 339-353
8. Roberts RC. Some contributions of the laboratory mouse to animal breeding research. Part II. *Animal Breeding Abstracts* 1965 b; 33 (4): 515-525
9. Brien FD. A review of the genetic and physiological relationships between growth and reproduction in mammals. *Animal Breeding Abstracts* 1986; 54 (12): 975-997
10. Domenichini M, Picardi L, Rabasa SL. Depresión de la aptitud por selección en ratones con endocría. *Mendeliana* 1989; 9 (1): 57-66
11. McCarthy JC. The laboratory mouse as a model for animal breeding: A review of selection for increased body weight and litter size. 2nd. *World Congr Gen Appl Live Pro* 1982; 66-83
12. Whittingham DG, Wood MJ. The mouse in Biomed Research Reproductive Physiology, Academic Press Inc 1983; III (9): 138-158
13. Hafez ESE. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea y Febiger. 1970
14. Picardi L, Font MT, Rabasa SL (con la colaboración de Iñurrigarro MI). Efecto de la selección de peso y fertilidad femenina en una población endocriada de ratones. *Mendeliana* 1977; 2 (1): 47-55
15. Luxford BG, Buis RC, Beilharz RG. Lifetime reproductive performance of lines of mice after long term selection for first parity litter size at birth. *J Anim Breed Genet* 1990; 107:188-195
16. Falconer DS. Improvements of litter size in a strain of mice at a selection limit. *Genet. Res Camb* 1971; 17: 215-235
17. Yoon Chai H. Homeostasis associated with heterozygosity in the genetics of the time of vaginal opening in the house mouse. *Genetics* 1955; 40: 297-309
18. Oyarzabal MI, Rabasa SL. Selección divergente de peso en ratones con alta endocría seguida de 90 generaciones de cría libre. *Mendeliana* 1994; 10 (2): 119-132
19. Feldman EC, Nelson RW. Endocrinología y reproducción canina y felina. Intermédica. 1991
20. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los EEUU. Métodos histológicos. AFIP. 1995.
21. Sokal RR, Rohlf FJ. Biometría. H. Blume Ed., Madrid. 1979.
22. Eisen EJ. Single trait and antagonistic index selection for litter size and body weight in mice. *Genetics* 1978; 88: 781-811
23. Büniger L, Renne U, Dietl G. Selection for body weight at 42 days in laboratory mice with and without litter size standardization. Direct response and correlated effects on litter size. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 1992; 35 (3): 305-319
24. Gion JM, Clutter AC, Nielsen MK. Alternative methods of selection for litter size in mice: II. Response to thirteen generations of selection. *J Anim Sci* 1990; 68: 3543-3556