

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

Máster Universitario en Tecnología y Calidad Agroalimentaria



**CRIOCONSERVACIÓN DE DOS LÍNEAS DE
CONEJOS SELECCIONADAS
DIVERGENTEMENTE POR VARIABILIDAD
DEL TAMAÑO DE CAMADA**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Septiembre – 2021

AUTOR: Blanca Ruiz Calventus

DIRECTOR/ES: María De La Luz García Pardo
María José Argente Carrascosa



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

VISTO BUENO DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

CURSO 2020/2021

Director/es del trabajo
María de la Luz García Pardo María José Argente Carrascosa

Dan su visto bueno al Trabajo Fin de Máster

Título del Trabajo
Crioconservación de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada
Alumno
Blanca Ruiz Calventus

Orihuela, a 17 de Septiembre de 2021
Firma/s tutores trabajo



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

REFERENCIAS DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER

Título: Crioconservación de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada.

Title: Cryoconservation of two lines of rabbits divergently selected for litter size variability.

Modalidad (proyecto/experimental): Experimental.

Type (project/research): Research.

Autor/Author: Blanca Ruiz Calventus.

Director/es/Advisor: María De La Luz García Pardo y María José Argente Carrascosa.

Convocatoria: Septiembre.

Month and year: September.

Número de referencias bibliográficas/number of references: 18

Número de tablas/Number of tables: 1

Número de figuras/Number of figures: 5

Número de planos/Number of maps: 0

Palabras clave (5 palabras): conejo, embrión, mórula, tamaño de camada, vitrificación.

Key words (5 words): embryo, maternal line, morula, litter size, vitrification.



MÁSTER UNIVERSITARIO EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

RESUMEN (mínimo 10 líneas):

Se ha llevado a cabo un experimento de selección divergente por variabilidad de tamaño de camada al nacimiento en conejo en las instalaciones de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Se ha utilizado como criterio de selección, la varianza fenotípica del tamaño de camada al nacimiento dentro de hembra, después de corregirlo por los efectos ambientales de parto-estado fisiológico de la hembra y la estación del año. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta correlacionada en la supervivencia y el desarrollo embrionario temprano después de 15 generaciones de selección por variabilidad del tamaño de camada, así como la creación de un banco de germoplasma de las líneas de este experimento. En la generación 15, se recogieron 411 embriones de 72 horas post-monta de 23 hembras de la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada (línea homogénea en tamaño de camada) y de 29 hembras de la línea seleccionada para incrementar la variabilidad el tamaño de camada (línea heterogénea en tamaño de camada), y solo se vitrificaron embriones normales. Los embriones fueron clasificados según su desarrollo en inicios de mórulas o mórulas compactas. En este trabajo, también se ha analizado el peso de la hembra, la tasa de ovulación, la tasa de recuperación y el desarrollo de los embriones. Las líneas mostraron un peso similar a 72 horas post-monta. Tampoco se observaron diferencias entre líneas en tasa de ovulación y de recuperación de embriones. Sin embargo, los embriones de la línea homogénea mostraron un desarrollo embrionario más avanzado a 72 horas que los de la línea heterogénea. Se han vitrificado un total de 162 embriones de la línea homogénea y 184 embriones de la línea heterogénea. En conclusión, un mayor desarrollo a 72 horas en la línea homogénea podría estar relacionada con su mayor tasa de implantación, reportado en otros trabajos. Además, el número de embriones vitrificados garantiza el mantenimiento de las líneas para futuros trabajos.

ABSTRACT (10 lines or more):

An experiment based on a divergent selection of litter size variability at birth in rabbits has been carried out in Miguel Hernández University. The selection criterion was phenotypic variance of litter size within the female at birth, after correcting for parity-physiological status and season. The aim of this study is to evaluate the correlated response in survival and early embryonic development after 15 generations of selection for variability litter size, as well as to create a germplasm bank in the lines of the divergent selection experiment for litter size variability. In generation 15, 411 embryos were recovered at 72 hours post coitum from 23 females of the line selected to decrease litter size variability (homogenous line in litter size) and 29 females of line selected to increase litter size variability (heterogenous line in litter size). Only normal embryos were vitrified. Embryos were classified as early morula or compact morula. In this study, female weight, ovulation rate, recovery rate and embryo development have also been analyzed. Both lines showed a similar weight at 72 hours post coitum. No differences were observed in ovulation and recovery rate between the lines. However, embryos from the homogeneous line showed more advanced embryonic development at 72 hours than those from the heterogenous line. A total of 162 embryos from the homogeneous line and 184 from the homogeneous one was vitrified. In conclusion, a higher embryo development at 72 hours in the homogeneous line could be related with its

higher implantation rate, as reported in other studies. In addition, the number of vitrified embryos guarantees the maintenance of the lines for future studies.



II Congreso Universitario en Innovación y Sostenibilidad Agroalimentaria (CUISA)

Programa Científico

Fecha	16 de septiembre de 2021
8:45-9:00	Ceremonia de Apertura
9:00-9:45	Conferencia Inaugural: “Impacto de la fisiología de la poscosecha en la Innovación agroalimentaria”. Dr. Juan Luis Valenzuela (Departamento de Biología y Geología, Universidad de Almería)
Sesión 1	Recursos Fitogenéticos, Mejora y Biotecnología en Producción Vegetal. Moderador: Dra. Nuria Albuquerque Ferrando (CEBAS-CSIC, Murcia)
	Presentaciones Orales
S1-01 9:45- 10:00	Mejora de la micropropagación en variedades de albaricoquero (<i>Prunus armeniaca</i> L.) mediante Sistemas de Inmersión Temporal. <i>C. Pérez-Caselles, L. Burgos, V. Origüela y N. Albuquerque.</i>
S1-02 10:00- 10:15	Efecto de la aplicación de ácido salicílico en precosecha sobre la calidad depimientado verde en la recolección y conservación. <i>A. Rodríguez, A. Dobón-Suarez, M.E. García-Pastor, P.J. Zapata y M. Giménez.</i>
S1-03 10:15- 10:30	Cultivo a media escala de líneas de tomate Muchamiel con resistencia avirus para su comercialización en Alicante. <i>P. Carbonell, J.A. Cabrera, J.F. Salinas, A. Grau, A. Alonso, J.J. Ruiz, S. García-Martínez.</i>
S1-04 10:30- 10:45	Introducción del gen <i>Ty-2</i> en el Programa de Mejora Genética de Variedades Tradicionales de Tomate del CIAGRO-UMH. <i>J.A. Cabrera, P. Carbonell, J.F. Salinas, A. Grau, A. Alonso, S. García-Martínez y J.J. Ruiz.</i>

S1-05 10:45- 11:00	Seguimiento de tres ensayos de tomate Muchamiel con resistencia a virus en el término municipal de Mutxamel durante el ciclo de primavera-verano 2021. <i>S. García-Martínez, J.M. Sánchez, A. Gómez, F. Hernández, M. Juárez, P. Guirao, A.M. Ortega, L. Noguera, A. Alonso, J.J. Ruiz.</i>
--------------------------	---

S1-06 11:00- 11:15	Efecto de nanotubos de carbono sobre diferentes combinaciones de citoquininas en la proliferación in vitro del portainjertos Garnem. <i>J. A. Medina, F. Hernández y A. Galindo.</i>
Presentaciones en Póster	
S1-P1	Diferencias en fenoles, flavonoides, flavonoles y actividad antioxidante totales entre 24 cultivares de tápenas de dos subespecies, <i>spinosa</i> y <i>rupestris</i> . <i>M. Grimalt, M.S. Almansa, S. García, F. Hernández, P. Legua y A. Amorós.</i>
11:15-11:30	Pausa Café
Sesión 2	Horticultura, Citricultura, Fruticultura, Viticultura y Protección de Cultivos. Moderador: Dr. Jesús García Brunton (IMIDA, Murcia)
Presentaciones Orales	
S2-01 11:30- 11:45	Influencia del envejecimiento sobre la composición volátil y sensorial del vino tinto. <i>I. González-Sánchez, F. Burló y L. Noguera-Artiaga.</i>
S2-02 11:45-12:00	Estudio sobre calidad sensorial y aromática de vino tinto. <i>A. Grao-Ruiz, P. J. Zapata y L. Noguera-Artiaga.</i>
S2-03 12:00- 12:15	Influencia de las propiedades del suelo en mostos de la variedad Monastrell en la Comarca del Noroeste-Región de Murcia. <i>M.A. Martínez, N. Martí, E. Martínez-Sabater y C. Paredes.</i>
S2-04 12:15- 12:30	Efecto del tratamiento de limoneros con melatonina sobre la producción y calidad del fruto. <i>F. Badiche, M. Serrano, J.M. Valverde, A. Carrión-Antolí, D. Martínez-Romero, D. Valero, S. Castillo.</i>
S2-05 12:30- 12:45	Los tratamientos con melatonina de cerezos 'Sweet Heart' aumentan el rendimiento del cultivo y la calidad del fruto en la recolección y durante la conservación. <i>M.V. Arias A. Carrión, F. Garrido, J.M. Lorente, P.J. Zapata, D. Valero, M. Serrano.</i>

S2-06 12:45- 13:00	La aplicación precosecha de jasmonato de metilo incrementa el rendimiento y la calidad del cultivo de pimiento verde. <i>A. Dobón-Suárez, M.J. Giménez, M.E. García-Pastor y P.J. Zapata.</i>
S2-07 13:00- 13:15	Caracterización temporal del limón mediterráneo para su aprovechamiento en la industria del zumo. <i>M.J. Rubio-Martínez, M.J. Giménez, M.E. García-Pastor, V. Serna-Escolanoy P.J. Zapata.</i>
Sesión 3	Economía Agraria y Gestión de Empresas. Moderador: Dra. Margarita M. Brugarolas (UMH, Orihuela)
	Presentaciones Orales
S3-01 13:15- 13:30	Estudio a consumidores sobre la aceptación de carne de cordero trashumante. <i>A. Ros Almela, N. Godoy Morales y L. Martínez-Carrasco Martínez.</i>
S3-02 13:30- 13:45	Black soldier fly (<i>Hermetia illucens</i>) breeding and processing company in Aranda de Duero (Burgos). <i>P. Saiz Valle, I. Blanco-Gutiérrez, L. Luna.</i>
S3-03 13:45- 14:00	Aspectos valorados por los consumidores a la hora de comprar o consumir saladas de IV gama. <i>J.M. Lorente, M. Serrano y M.T. Pretel.</i>
14:00-15:00	Pausa Comida
Sesión 4	Producción, Bienestar, Genética y Calidad en la Producción Animal. Moderador: Dr. Alberto Atzori (UNISS, Sassari, Italia)
	Presentaciones Orales
S4-01 15:00- 15:15	Crioconservación de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada. <i>B. Ruiz, M.L. García y M.J. Argente.</i>
S4-02 15:15- 15:30	Conductas individuales y expresiones faciales en ovinos estabulados criados libres de parásitos gastrointestinales. <i>A.A. Luna Bojórquez, P.G. González Pech, F.A. Méndez Ortíz, C.A. Sandoval Castro, J.F.J. y Torres Acosta.</i>
S4-03 15:30- 15:45	Estudio del porcentaje de inclusión de subproducto de alcachofa (brácteas) en dietas de cabras lecheras para una producción sostenible y circular. <i>P. Monllor, R. Muelas, A. Roca, E. Sendra, J.R. Díaz y G. Romero</i>

Presentaciones en Póster	
S4-P1	Las actividades formativas del IFAPA en el sector ganadero, en la provincia de Almería. <i>S. Aparicio, A. González, V. Navarro, L. Lara, S. Parra, y M.C. García-García.</i>
Sesión 5	Agricultura Sostenible. Cambio Climático y Estrés Ambientales. Moderador: Dr. José Antonio Sánchez Zapata (UMH, Elche)
Presentaciones Orales	
S5-01 15:45- 16:00	Optimización de un método para evaluar la capacidad antifúngica de extractos de cianobacterias. <i>M.P. Marí, A.D. Asencio, M.T. Pretel y G. Díaz</i>
S5-02 16:00- 16:15	Mejora de la sostenibilidad del cultivo de fresa: mecanismos fisiológicos desencadenados por bacterias PGP bajo condiciones subóptimas de fertilización. <i>E. Romano, J.V. García López, N.J. Flores-Duarte, S. Merino, J. Mesa-Marín, I.D. Rodríguez-Llorente, S. Redondo-Gómez, E. Pajuelo y E. Mateos-Naranjo.</i>
S5-03 16:15- 16:30	Estudio de caracterización de suelos contaminados con ceniza volcánica y forraje destinado a consumo animal en la zona de Bilbao-Ecuador. <i>L. Carrera-Beltrán, I. Gavilanes-Terán, J. Idrovo-Novillo, V. H. Valverde, T. Albán-Guerrero, S. Ruiz-Illapa, C. Paredes y A.A. Carbonell-Barrachina.</i>
S5-04 16:30- 16:45	Influencia de la micorrización con <i>Glomus sp.</i> sobre sustancias farmacológicamente activas en el cultivo de <i>Cistus albidus</i> L. <i>D. Raus de Baviera, E. M. Losada-Echeberría, F. J. Álvarez-Martínez, F. Borrás-Rocher, E. Barrañón-Catalán y A. Ruiz Canales.</i>
S5-05 16:45- 17:00	Especies de <i>Variovorax</i> asociadas al nódulo que mejoran el crecimiento y la nodulación de <i>Medicago sativa</i> en situaciones de estrés. <i>N.J. Flores-Duarte, J. Pérez-Pérez, E. Mateos-Naranjo, S. Redondo-Gómez, E. Pajuelo, I.D. Rodríguez-Llorente y S. Navarro-Torre.</i>
S5-06 17:00- 17:15	Aplicaciones con poliaminas en floración y durante el desarrollo en el árbol reducen fisiopatías e incrementan la calidad de cereza (<i>Prunus avium</i> L.) de la IGP montaña de Alicante <i>M. Nicolás, M.C. Ruiz-Aracil, A. Carrión-Antolí, J.M. Lorente-Mento, J.M. Valverde y F. Guillén.</i>
S5-07 17:15-17:30	Climate change, food crisis, Covid-19 in Mozambique. <i>Jérôme Etsong Mbang.</i>
Presentaciones en Póster	

S5-P1	<p>Biofertilizantes: herramientas para optimizar la producción de fresa con reducciones de riego y fertilización química.</p> <p><i>J.V. García López, N.J. Flores-Duarte, E. Romano, J. Mesa-Marín, I.D. Rodríguez-Llorente, S. Redondo-Gómez, E. Pajuelo y E. Mateos-Naranjo.</i></p>
S5-P2	<p>Efecto de la aplicación de biofertilizantes basados en hongos micorrízicos <i>Trichoderma harzianum</i> en el desarrollo de plantas de puerro.</p> <p><i>G. Díaz, V. Fernández y P. Torres</i></p>
17:30-17:45	Pausa Café
Sesión 6	Gestión y Valorización de Residuos Orgánicos en la Agricultura. Moderador: Dr. Antonio Rosal Raya (UPO, Sevilla)
	Presentaciones Orales
S6-O1 17:45- 18:00	<p>Efectos del tipo de estiércol en la evolución de su co-compostaje con residuos vegetales y en la calidad agronómica del compost obtenido.</p> <p><i>C. Santiago-Cubas y C. Paredes.</i></p>
S6-O2 18:00- 18:15	<p>Aplicación agronómica de los digeridos procedentes de residuos de frutas y verduras.</p> <p><i>C. Álvarez, M.P. Bernal y R. Clemente.</i></p>
S6-O3 18:15- 18:30	<p>Importancia del manejo de pilas de compostaje en la evolución y calidad del compost en Liria (Valencia)</p> <p><i>I.O. Medina Benavides, M.T. Fernández Suarez, A. Pérez Espinosa, M.D. Pérez Murcia y R. Moral.</i></p>
S6-O4 18:30- 18:45	<p>Caracterización de residuos orgánicos agrícolas y ganaderos generados en la provincia de Chimborazo (Ecuador) para el estudio de alternativas a su gestión actual.</p> <p><i>V.H. Valverde, I. Gavilanes-Terán, J. Idrovo-Novillo, L. Carrera-Beltrán, S. Buri Tanguila, K. Salazar García y C. Paredes.</i></p>
S6-O5 18:45- 19:00	<p>Combined effect on substrate, plastic biofilm and earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) in presence of different type of plastic material under vermicomposting.</p> <p><i>Z. Emil Blesa, Marcela Pedraza-Torres, J.A. Sáez, J.C. Sánchez-Hernández y R. Moral.</i></p>
S6-O6 19:00- 19:15	<p>Efecto sobre la calidad del fruto del naranjo Navel v. Chislett Summer empleando varias opciones de manejo agronómico en una finca del sureste español.</p> <p><i>S. Sánchez Méndez, E. Martínez Sabater, A. Pérez Espinosa, J. Sáez Tovar y R. Moral.</i></p>

S6-O7 19:15- 19:30	Presencia de plaguicidas en mezclas iniciales y compost maduros de productores agroecológicos. El rol del compostaje en su eliminación. <i>A. García-Rández, M.T. Fernández-Suárez, M.D. Pérez-Murcia y R. Moral.</i>
Presentaciones en Póster	
S6-P1	Valorización de residuos de la industria agroalimentaria mediante compostaje. <i>C. Álvarez, M.D. Pérez-Murcia, R. Moral, J.A. Pascual, M. Ros, C. Egea-Gilabert, J.A. Fernández y M.A. Bustamante.</i>

Sesión 7	Instalaciones Industriales y Agrícolas. Moderador: Dr. Andrés Fernando Jiménez López (Universidad de los Llanos, Colombia)
Presentaciones Orales	
S7-O1 19:30- 19:45	Diseño de un velocímetro de banda de rodadura para ensayo de velocidad máxima en ciclomotor de 2 ruedas (L1/L1e) en condiciones estáticas. <i>M.M. Paricio-Caño y M. Ferrández-Villena.</i>
Presentaciones en Póster	
S7-P1	Empleo de nariz, lengua y ojo electrónicos de bajo coste para el monitoreo de procesos agroalimentarios. <i>M. Fernández, M. Ferrández-Villena, M. Oates, C. Molina, A. Conesa, J. Ramos, N. Abu Khalaf y A. Ruiz Canales.</i>
S7-P2	Empleo de nariz electrónica de bajo coste en el monitoreo de colmenas de abejas. <i>E. González, M.A. Madueño y A. Ruiz Canales.</i>
19:45-20:15	Presentaciones de los Pósteres del día 1 (Sesiones 1-7)

Fecha	17 de septiembre de 2021
Sesión 8	Gestión del Agua, Nutrición y Energía en Horticultura. Moderador: Dr. Alejandro Galindo Egea (Departamento de Agronomía, Universidad de Sevilla)
Presentaciones Orales	

S8-01 9:00- 9:15	Estimación de la huella de carbono: caso práctico en diez Comunidades deRegantes. Estrategias para su reducción. <i><u>S. Colino Jiménez</u>, A. Melián Navarro y A. Ruiz Canales.</i>
S8-02 9:15- 9:30	Obtención automática del punto de capacidad de campo a través de sensores de humedad de suelo. <i><u>M. Soler-Méndez</u>, D. Parras-Burgos, A. Cisterne-López, E. Mas-Espinosa, J.M. Molina-Martínez y D. Intrigliolo.</i>
S8-03 9:30- 9:45	Aplicaciones de teledetección para la mejora del riego de granado en laVega Baja del Segura (Alicante, España). <i><u>J. Solano-Jimenez</u>, S. Rodriguez-Cámara, H. Puerto-Molina y J.M. Cámara-Zapata.</i>
Presentaciones en Póster	
S8-P1	Determinación de la variación de la huella hídrica y la huella de carbono en una comunidad de regantes como medida de la mejora medioambiental de las instalaciones. Aplicación a un caso de estudio. <i><u>F. López Peñalver</u>, J. Chazarra Zapata, A. Melián Navarro y A. Ruiz Canales.</i>
Sesión 9	Usos del Territorio. Valoración de Recursos Agrarios. Desarrollo Rural. Moderador: Dra. María Dolores de Miguel (UPCT, Cartagena)
Presentaciones Orales	
S9-01 9:45- 10:00	Diversidad social y agroambiental en los paisajes mediterráneos costeros:el ENP La Muela y Cabo Tiñoso (Cartagena – Murcia). <i><u>J. Martínez Sánchez</u> y L. Martínez-Carrasco Martínez.</i>
S9-02 10:00- 10:15	Gotas de tierra: Mejora de las parcelas de cultivo, la equidad y seguridad alimentaria de mujeres rurales en Colombia desde la perspectiva de los ODS. <i><u>P. Espitia-Zambrano</u> y J.A. Pérez-Álvarez.</i>
Presentaciones en Póster	
S9-P1	Peligrosidad del combustible en la Región de Murcia. El abandono de los cultivos agrícolas incrementa el riesgo de incendio en la interfaz urbano-forestal <i>J.F. Sarabia y <u>M.T. Pretel.</u></i>
S9-P2	Desarrollo territorial en las marismas de la margen izquierda del Guadalquivir. <i><u>M.A. Falcón Sánchez</u></i>
Sesión 10	Procesado e Innovación en Productos de Origen Animal. Moderador: Dr. José Manuel Lorenzo Rodríguez (Centro Tecnológico dela Carne, CTC, Galicia)

Presentaciones Orales	
S10-O1 10:15- 10:30	Reformulación de hamburguesas de ternera con geles de emulsiones de agua y aceites vegetales. <i>A. Gea-Quesada, E. Sayas-Barberá, C. Botella-Martínez y M. Viuda-Martos.</i>
S10-O2 10:30- 10:45	Aplicación de un subproducto de mango como antioxidante en un producto cárnico. <i>L. Morocho, F. Reyes, M.C. Guamán-Balcázar</i>
10:45-11:00	Pausa Café

S10-O3 11:00-11:15	Caracterización de queso curado de oveja con y sin DOP Manchego basado en el perfil de compuestos volátiles, pH, humedad y ATR-FTIR. <i>R. Pesci de Almeida, K. A. Iglar, M. Cano-Lamadrid, E. Sendra, A. Beltrán y A. Valdés.</i>
S10-O4 11:15- 11:30	Reducción parcial de sal y grasa en salchichas tipo Frankfurt con adición de harinas de <i>Agaricus bisporus</i> y <i>Pleurotus ostreatus</i> . <i>M.I. Cerón-Guevara, E. Rangel-Vargas, J.M. Lorenzo, R. Bermúdez, M. Pateiro, J.A. Rodríguez, I. Sánchez-Ortega y E.M. Santos.</i>
S10-O5 11:30- 11:45	Efecto de la incorporación un coproducto de semillas de chía a un embutido sobre las propiedades fisicoquímicas durante la etapa de secado-maduración. <i>J. García-Martín, A. Roldán-Verdú y J.A. Pérez-Álvarez.</i>
Presentaciones en Póster	
S10-P1	Modificación del perfil lipídico en salchichas tipo Frankfurt mediante una emulsión gelificada a base de trigo sarraceno y aceite de cáñamo. <i>C. Botella-Martínez, J. Fernández-López, J.A. Pérez-Álvarez y M. Viuda-Martos.</i>
S10-P2	Aplicación de agentes de carga de aceite de oliva para desarrollar salchichas Frankfurt saludables y sostenibles. <i>T. Pintado, A.M. Herrero y C. Ruiz-Capillas.</i>
Sesión 11	Postcosecha y procesado de productos vegetales. Moderador: Dr. Lorenzo Ángel Zacarías (IATA, Valencia)
Presentaciones Orales	

S11-01 11:45- 12:00	Efectos del tratamiento en precosecha con melatonina sobre los parámetros de calidad en granada 'Mollar de Elche'. <i>F. Garrido, J.M. Lorente-Mento, D. Valero y M. Serrano.</i>
S11-02 12:00- 12:15	Proteína PeAfpA: optimización de su producción biotecnológica y aplicación en patosistemas postcosecha. <i>C. Roperó, J.F. Marcos y P. Manzanares.</i>
S11-03 12:15- 12:30	Sustancias de origen natural frente a compuestos comerciales de origen artificial: efecto sobre la prolongación del almacenamiento refrigerado de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) y el mantenimiento de compuestos bioactivos. <i>E. Bernabé-García, M.C. Ruiz-Aracil, F. Guillén y J.M. Valverde.</i>
S11-04 12:30- 12:45	Aplicación de tratamientos post-cosecha para incrementar la calidad durante el almacenamiento de aguacate (<i>Persea americana</i> M.). <i>M.I. Madalina-Ileg, M.C. Ruiz-Aracil, J.M. Valverde, M. Nicolás y F. Guillén.</i>
S11-05 12:45- 13:00	Aprovechamiento de un subproducto de la industria de aceituna para el desarrollo de alimentos con un valor añadido. <i>M. Ródenas, M.J. Giménez, M.E. García-Pastor y P.J. Zapata.</i>
S11-06 13:00- 13:15	Mejora de la conservación de la granada "Mollar de Elche" mediante tratamientos precosecha con Jasmonato de Metilo. <i>A.M. Codes-Alcaraz, A. Dobón-Suárez, M.E. García-Pastor y S. Castillo.</i>
S11-07 13:15- 13:30	Efecto de la aplicación postcosecha de nitroprusiato de sodio sobre la calidad de limón ecológico. <i>A. Del Cerro, A. Dobón-Suarez, M.E. García-Pastor, M. Giménez y P.J. Zapata.</i>
S11-08 13:30- 13:45	Melatonina aplicada como tratamiento en campo incrementa los sistemas antioxidantes en las cerezas 'Prime Giant'. <i>A. Carrión-Antolí, F. Badiche, J.M. Lorente-Mento, F. Guillén, S. Castillo, M. Serrano y D. Valero.</i>
13:45-15:00	Pausa comida
Sesión 11- Continuación	Postcosecha y procesado de productos vegetales. Moderador: Dr. Salvador Castillo (UMH, Orihuela)
S11-09 15:00- 15:15	Eliminación de etileno con un reactor de luz ultravioleta con titanio y su efecto sobre brócoli en condiciones de conservación. <i>A. Guirao, P. García-Ponsoda, S. Castillo, F. Guillén, M. Serrano y D. Martínez-Romero.</i>

S11-O10 15:15- 15:30	Efecto de una trampa de ozono acoplada a un eliminador de etilenofotocatalítico: caso práctico en tomate Raf. <i><u>P. García-Ponsoda</u>, A. Guirao, J.M. Valverde, D. Valero y D. Martínez-Romero.</i>
S11-O11 15:30- 15:45	Evaluación de las condiciones de almacenamiento de hojas de <i>Aloe vera</i> para su comercialización en fresco. <i><u>A. Campaña</u>, P. García-Ponsoda, A. Guirao y D. Martínez-Romero.</i>
S11-O12 15:45- 16:00	Estudio del contenido en polifenoles de cuatro variedades de alcachofa(<i>Cynara scolymus</i> L.): aptitud para cuarta gama. <i><u>M. Giménez-Berenquer</u>, M. J. Giménez, P. Carbonell, J. A. Cabrera y P. J.Zapata.</i>

Sesión 12	Alimentación Funcional, Calidad Sensorial y Salud. Moderador: Dra. María José Frutos Fernández (UMH, Orihuela)
	Presentaciones Orales
S12-O1 16:00- 16:15	Esteroles vegetales en matrices líquidas: obtención e incorporación en unabebida de frutas. <i><u>M. Álvarez-Henao</u>, J. Londoño-Londoño y C. Jiménez-Cartagena.</i>
S12-O2 16:15- 16:30	Efecto de endulzantes alternativos sobre la biodisponibilidad y bioactividad de antocianos y flavanonas de una bebida de maqui-limón. <i><u>V. Agulló</u>, R. Domínguez-Perles y C. García-Viguera.</i>
S12-O3 16:30- 16:45	Influencia de edulcorantes sobre compuestos bioactivos en un sistema modelo. <i><u>A. Bica</u>, V. Agulló y C. García-Viguera.</i>
S12-O4 16:45- 17:00	Microencapsulación de <i>L. Plantarum</i> en cápsulas simples y de doble capa: efecto de las condiciones térmicas y la digestión gastrointestinal sobre la viabilidad probiótica. <i><u>E. López-Martínez</u>, M.J. Frutos y E. Valero-Cases.</i>
17:00-17:15	Pausa Café
S12-O5 17:15- 17:30	Variabilidad de los parámetros de calidad funcional y sensorial de la canelamolida. <i><u>C. Muñoz-Ezcurra</u>, M. Cano-Lamadrid, E. Sendra, F. Hernández y L. Lipan.</i>

S12-O6 17:30- 17:45	Comparación de distintos parámetros de quesos curados de oveja DOPManchego (Denominación de Origen Protegida) vs no-DOP. <i>K. A. Iqler Marí, E. Sendra, A. Valdés García, A. Beltrán Sanahuja, R. PesciDe Almeida y M. Cano Lamadrid.</i>
S12-O7 17:45- 18:00	Leche fermentada enriquecida con <i>Cinnamomum cassia</i> y <i>Cinnamomumverum</i> molida: efecto de la canela en la fermentación y calidad del yogur. <i>A. E. Vargas, M. Cano y E. Sendra.</i>
S12-O8 18:00- 18:15	Caracterización de las flores y estigmas de <i>Crocus sativus</i> L. argelino y su valor como alimento. <i>R. Vicente, D. Cerdá, E. Valero y M.J. Frutos.</i>
S12-O9 18:15- 18:30	Estudio del grado de implementación de Clean Label en alimentos de gran consumo en España: propuestas de mejora. <i>N. Jiménez-Redondo, M. Cano-Lamadrid y J. M. Valverde.</i>
S12-O10 18:30- 18:45	Elaboración de cerveza artesana sin alcohol enriquecida funcionalmente con brotes de brócoli ecológico. <i>J. Gerth, A. Dobón-Suarez, M.E. García-Pastor, M. Giménez y P.J. Zapata.</i>
S12-O11 18:45-19:00	Revisión científica y visión del sistema de alertas RASFF del contenido de metales pesados en alimentos. <i>R.M. Franco-Calderón, E. Sendra y M. Cano-Lamadrid.</i>
Presentaciones en Póster	
S12-P1	Composición nutricional y actividad antioxidante del azafrán (<i>Crocus sativus</i> , L.) y sus subproductos florales para el desarrollo de nuevos ingredientes funcionales. <i>D. Cerdá-Bernad, E. Valero-Cases y M.J. Frutos .</i>
S12-P2	Alteración de la microbiota intestinal en pacientes con COVID-19. <i>P. Bersano-Reyes y G. Nieto-Martínez.</i>
S12-P3	Aplicación de subproducto de mango como antioxidante en un producto de panadería. <i>J. Rueda, N. Ortega y M. Guamán.</i>
S12-P4	Caracterización de compuestos bioactivos de las semillas de dos cultivares de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill. en condiciones homogéneas de cultivo. <i>L. Andreu-Coll, J. Kolniak-Ostek, A. Kita, J. Miedzianka, P. Legua y F. Hernández.</i>

S12-P5	Desarrollo de galletas funcionales sin gluten adaptadas a los requerimientos nutricionales de celíacos. <i>C. Campuzano y G. Nieto.</i>
19:00-20:00	Presentaciones de los Pósteres del día 2 (Sesiones 8-12)
20:00-20:30	Ceremonia de Clausura

Dr. Santiago García-Martínez (Presidente del Comité Organizador)

Dra. María Serrano (Presidenta del Comité Científico)

Crioconservación de dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada

B. Ruiz¹, M.L. García¹ y M.J. Argente¹

¹ Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Miguel Hernández University, Ctra. de Beniel km 3.2, 03312 Orihuela. Email: blanca.ruiz02@goumh.umh.es

Resumen

Se ha llevado a cabo un experimento de selección divergente por variabilidad de tamaño de camada al nacimiento en conejo en las instalaciones de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Se ha utilizado como criterio de selección, la varianza fenotípica del tamaño de camada al nacimiento dentro de hembra, después de corregirlo por los efectos ambientales de parto-estado fisiológico de la hembra y la estación del año. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta correlacionada en la supervivencia y el desarrollo embrionario temprano después de 15 generaciones de selección por variabilidad del tamaño de camada, así como la creación de un banco de germoplasma de las líneas de este experimento. En la generación 15, se recogieron 411 embriones de 72 horas post-monta de 23 hembras de la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada (línea homogénea en tamaño de camada) y de 29 hembras de la línea seleccionada para incrementar la variabilidad el tamaño de camada (línea heterogénea en tamaño de camada), y solo se vitrificaron embriones normales. Los embriones fueron clasificados según su desarrollo en inicios de mórulas o mórulas compactas. En este trabajo, también se ha analizado el peso de la hembra, la tasa de ovulación, la tasa de recuperación y el desarrollo de los embriones. Las líneas mostraron un peso similar a 72 horas post-monta. Tampoco se observaron diferencias entre líneas en tasa de ovulación y de recuperación de embriones. Sin embargo, los embriones de la línea homogénea mostraron un desarrollo embrionario más avanzado a 72 horas que los de la línea heterogénea. Se han vitrificado un total de 162 embriones de la línea homogénea y 184 embriones de la línea heterogénea. En conclusión, un mayor desarrollo a 72 horas en la línea homogénea podría estar relacionado con su mayor tasa de implantación, reportada en otros trabajos. Además, el número de embriones vitrificados garantiza el mantenimiento de las líneas para futuros trabajos.

Palabras clave: conejo, embrión, mórula, tamaño de camada, vitrificación.

Cryoconservation of two lines of rabbits divergently selected for litter size variability.

Abstract

An experiment based on a divergent selection of litter size variability at birth in rabbits has been carried out in Miguel Hernández University. The selection criterion was phenotypic variance of litter size within the female at birth, after correcting for parity-physiological status and season. The aim of this study is to evaluate the correlated response in survival and early embryonic development after 15 generations of selection for variability litter size, as well as to create a germplasm bank in the lines of the divergent selection experiment for litter size variability. In generation 15, 411 embryos were recovered at 72 hours post coitum from 23 females of the line selected to decrease litter size variability (homogenous line in litter size) and 29 females of line selected to increase litter size variability (heterogenous line in litter size). Only normal embryos were vitrified. Embryos were classified as early morula or compact morula. In this study, female weight, ovulation rate, recovery rate and embryo development have also been analyzed. Both lines showed a similar weight at 72 hours post coitum. No differences were observed in ovulation and recovery rate between the lines. However, embryos from the homogeneous line showed more advanced embryonic development at 72 hours than those from the heterogenous line. A total of 162 embryos from the homogeneous line and 184 from the homogeneous one was vitrified. In conclusion, a higher embryo development at 72 hours in the homogeneous line could be related with its

higher implantation rate, as reported in other studies. In addition, the number of vitrified embryos guarantees the maintenance of the lines for future studies.

Keywords: embryo, maternal line, morula, litter size, vitrification.

Introducción

En los últimos años se ha observado un aumento en el interés por la determinación genética de la varianza ambiental en producción animal. La selección para reducir la varianza ambiental produciría animales que se adaptan mejor a su entorno, conllevando así a una mejora en el bienestar animal (Broom, 2008). Se está llevando a cabo con éxito un experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada en conejos (Blasco et al., 2017). Después de catorce generaciones de selección, la línea H (seleccionada para incrementar la variabilidad del tamaño de camada) y la línea L (seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada) difirieron para el carácter seleccionado un 4,5% de la media de la población base. Además, se ha encontrado que la línea L es menos sensible al estrés y a enfermar, siendo por tanto más resiliente que la línea H (Argente et al., 2019; Beloumi et al., 2020; García et al., 2012). Por otro lado, se ha observado que disminuir la variabilidad conduce a un incremento en el tamaño de camada; concretamente, la línea L presenta casi un gazapo más al parto que la línea H (Blasco et al., 2017). El tamaño de camada depende de la tasa de ovulación y de las supervivencias embrionarias y fetales (Argente et al., 1999). La tasa de ovulación es el carácter limitante del tamaño de camada y las pérdidas embrionarias tempranas están relacionadas con el desarrollo embrionario (Badawy et al., 2016). Por tanto, el estudio del desarrollo embrionario ayudaría a explicar la diferencia en el tamaño de camada entre las líneas.

Los bancos de embriones son importantes en los programas de mejora genética animal para estimar la respuesta a selección mediante población control y como medida de bioseguridad (Vicente y Garcia-Ximenez, 1996). Los recientes avances en la crioconservación de ovocitos y embriones de mamíferos se han logrado exclusivamente con la vitrificación. Los protocolos de vitrificación comparados con los de congelación son más sencillos y no son necesarios ultracongeladores. Sin embargo, la toxicidad de los crioprotectores usados durante la vitrificación es más elevada. Por ello, la tasa de supervivencia embrionaria tras la vitrificación difiere según el método de criopreservación, el tipo y la concentración de crioprotectores, las tasas de enfriamiento, así como la calidad del embrión (Viudes de Castro et al., 2010). La mórula parece ser el estado embrionario que tolera mejor los cambios osmóticos y la toxicidad de las soluciones de vitrificación altamente concentradas (Vicente y Garcia-Ximenez, 1996).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta correlacionada en la supervivencia y el desarrollo embrionario temprano después de 15 generaciones de selección por variabilidad del tamaño de camada, así como la creación de un banco de embriones vitrificados de las líneas del experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada.

Material y Métodos

2.1. Declaración de ética

Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Miguel Hernández de Elche, de acuerdo con las Directivas del Consejo 98/58/CE y 2010/63/UE (número de referencia TFM.MTC.MJAC.BRC.210510).

2.2. Material animal

En el estudio se utilizaron conejas adultas múltiparas de las dos líneas del experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada de la generación 15. El criterio de selección fue la varianza fenotípica del tamaño de camada al nacimiento dentro de la hembra (Blasco et al., 2017). La línea H engloba a las hembras seleccionadas para aumentar la variabilidad del tamaño de la camada, mientras que la línea L hace referencia a las hembras seleccionadas para disminuir dicha variabilidad.

Se realizaron 7 sesiones de recuperación de embriones. En ellas se obtuvieron un total de 411 embriones provenientes de 29 hembras de la línea H y de 23 de la línea L. Las conejas se pesaron y fueron sacrificadas a las 72 horas post-monta para la extracción inmediata del tracto reproductivo (Figura 1).

De él se retiraron los ovarios y se contaron los cuerpos lúteos para la estimación de la tasa de ovulación (TO). Los embriones totales (ET) se recuperaron en una placa Petri de vidrio mediante perfusión de los oviductos con 5 ml de medio de lavado formado por Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) y 0,2% de albúmina de suero bovino (BSA).



Figura 1. Tracto reproductivo extraído de la hembra a las 72h post-monta.

Los embriones fueron lavados para eliminar restos de sangre. A continuación, con ayuda de un microscopio estereoscópico binocular se contabilizó el número de embriones totales recuperados (ET); todo ello se realizó a temperatura ambiente. Los embriones recuperados se clasificaron en: embriones normales (EN) cuando presentaron forma regular y la capa de mucina y zona pelúcida estaban intactas y regulares, embriones anormales (EA) con estructura de irregular, y oocitos (OC). La tasa de recuperación (TR) fue calculada como:

$$TR = \frac{EN + EA + OC}{TO} \quad (1)$$

Los embriones normales se clasificaron según su grado de desarrollo en inicio de mórula (IM) y mórula compacta (MC) (Figura 2 y 3). Las tasas de IM y MC se calcularon mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa IM} = \frac{\text{EN clasificados como IM}}{\text{EN}} \quad (2)$$

$$\text{Tasa MC} = \frac{\text{EN clasificadas como MC}}{\text{EN}} \quad (3)$$

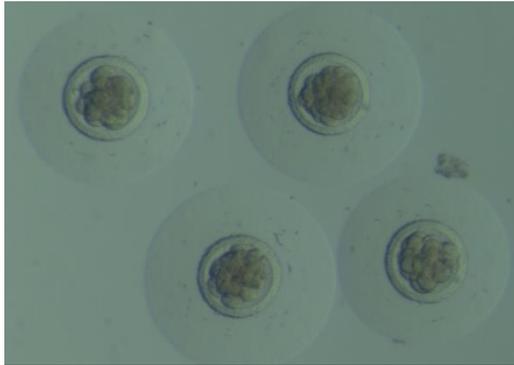


Figura 2. Inicio de mórula

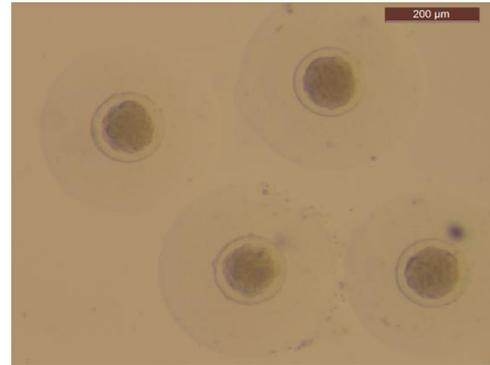


Figura 3. Mórula compacta

2.3. Proceso de vitrificación

El proceso de vitrificación ha sido ampliamente descrito por Vicente y García-Ximénez (1996). La solución crioprotectora presentó la siguiente composición: 1:1:2 (v/v/v) de dimetilsulfóxido (DMSO 3,5 M), etilenglicol (EG 4,4 M) y DPBS. Sólo los EN fueron vitrificados. El proceso de vitrificación se llevó a cabo en dos etapas. En la primera etapa se sumergieron los EN en 0,2 ml de medio de lavado y 0,2 ml de medio de vitrificación durante 2 minutos. En la segunda etapa se añadieron 0,6 ml de medio de vitrificación. El tiempo de exposición de los embriones a la solución final de vitrificación no excedió 1 minuto.

Los embriones vitrificados (EV) se cargaron en pajuelas de 0,25 ml (Figura 4), las cuales fueron selladas con un plástico e introducidas en diferentes canister (Figura 5). Finalmente, las pajuelas se sumergieron directamente en nitrógeno líquido a -196°C .

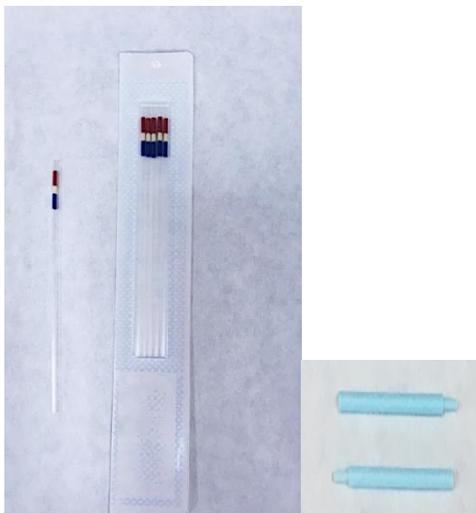


Figura 4. Pajuelas y sellado (inferior derecha) utilizadas para la vitrificación.



Figura 5. Canister

2.4. Caracteres trabajados

Los caracteres medidos durante el experimento fueron los siguientes:

- Peso de la hembra

- Tasa de ovulación
- Embriones normales
- Tasa de recuperación
- Inicio de mórula
- Mórulas compactas
- Embriones vitrificados

2.5. Modelo estadístico

Todos los caracteres se analizaron con un modelo que incluía únicamente el efecto de línea (H y L). Para los embriones normales se incluyó también la tasa de ovulación como covariable. Todos los caracteres se analizaron mediante metodología bayesiana (Blasco, 2017).

Resultados y Discusión

Las líneas H y L mostraron un peso similar en el momento de la monta ($D_{H-L} = 64$ g., $p=0.70$, Tabla 1). El peso es ligeramente superior a hembras multíparas de otras líneas maternas (Belabbas et al., 2021).

La TO fue similar en ambas líneas ($D_{H-L} = 0.2$ g., $p=0.58$). Este resultado es reiterativo con el encontrado en generaciones anteriores, y corrobora que la selección por variabilidad en tamaño de camada no tiene una respuesta correlacionada en la TO (Argente et al., 2017).

Tabla 1. Diferencias para el peso, la tasa de ovulación (TO), la tasa de recuperación (TR), los embriones normales (EN), la clasificación embrionaria (Inicio de mórula, IM; Mórulas compactas, MC) y los embriones vitrificados (EV) para la línea H y la línea L.

Parámetros	H	L	D_{H-L}	HPD _{95%}	p
Peso (g)	3772	3706	64	-168, 319	0,70
TO	10,6	10,4	0,2	-1,1, 1,4	0,58
TR	0,72	0,76	-0,04	-0,17, 0,12	0,69
EN	6,5	7,3	-0,8	-2,6, 1,1	0,80
IM	0,24	0,07	0,17	-0,01, 0,37	0,97
MC	0,76	0,93	-0,17	-0,36, 0,01	0,97
EV	6,6	7,4	-0,8	-2,8, 1,4	0,78

H: media de la línea seleccionada para incrementar la variabilidad del tamaño de camada. L: media de la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada. D_{H-L} : diferencia entre la línea H y L. HPD_{95%}: Intervalo de alta densidad posterior al 95%. p: probabilidad de que la diferencia sea > 0 cuando $D_{H-L} > 0$ o sea < 0 cuando $D_{H-L} < 0$.

La eficacia del proceso de recuperación embrionaria, medida como TR fue similar entre las líneas, siendo de aproximadamente de 0,75 ($p=0,69$). La línea L mostró un 12,3% más de EN que la línea H, siendo la diferencia entre las líneas de 0,8 EN ($p=0,80$). La línea L presentó un mayor desarrollo embrionario, pues mostró menos embriones clasificados como IM (0,07) y más MC (0,93, $p=0,97$). Este resultado concuerda con los obtenidos para las líneas en generaciones anteriores (García et al, 2016; Calle et al., 2017). La supervivencia del embrión que llega al entorno del útero en un estado menos desarrollado puede estar comprometida en las primeras etapas de la gestación debido a la asincronía entre el grado de desarrollo del embrión y el ambiente uterino (Geisert y Schmitt, 2002; Hunter et al., 2004).

La mayor susceptibilidad al estrés de la línea H frente a la línea L (Argente et al., 2019; Beloumi et al., 2020) podría justificar el menor grado de desarrollo de sus embriones y la menor supervivencia embrionaria.

El número de EV por hembra fue de 6,6 para la línea H y 7,4 para la línea L. Se vitrificaron todos los EN (184 embriones de la línea H y 162 embriones de la línea L). La ligera discrepancia entre el número de EN y EV puede relacionarse con la corrección por TO introducida como covariable en el número de EN. El número de EV garantiza la salvaguarda del material genético excepcional que se ha generado, al ser la primera vez que se ha seleccionado divergentemente dos líneas por sensibilidad ambiental con éxito (Blasco et al., 2017). Además, la población crioconservada permitirá evaluar la respuesta a la selección con la reconstitución de una población control (García y Baselga, 2002) o realizar estudios reproductivos (Mocé et al., 2004).

Conclusiones

En conclusión, la selección para la variabilidad del tamaño de la camada no pareció afectar a la TO, pero sí al desarrollo embrionario en donde la línea L mostró un progreso más avanzado que la línea H. Además, se ha constituido un banco de embriones crioconservados de las líneas para ser utilizado en estudios posteriores.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL2017-86083-C2-2-P del Ministerio de Ciencia e Innovación (MIC)-Agencia Estatal de Investigación (AEI) y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Bibliografía

Argente, M.J., Calle, E.W, Garcia, M.L., Blasco, A., 2017. Correlated response in litter size components in rabbits selected for litter size variability. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 134 (6), 505-51. <https://doi.org/10.1111/jbg.12283>.

Argente, M.J., García, M.L., Zbyňovská, K., Petruška, P., Capcarová, M., Blasco, A., 2019. Correlated response to selection for litter size environmental variability in rabbits' resilience. *Animal*. 13 (10), 2348-2355. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000302>.

Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A., 1999. Phenotypic and genetic parameters of birth weight and weaning weight of rabbits born from unilaterally ovariectomized and intact does. *Livestock Production Science*. 57, 159–167.

Badawy, A.Y., Peiró R., Blasco A., Santacreu M.A., 2016. Effect of increased ovulation rate on embryo and foetal survival as a model for selection by ovulation rate in rabbits. *World Rabbit Science*. 24, 87-94. <https://doi.org/10.4995/wrs.2016.3992>.

Belabbas, R., Garcia, M.L., AinBaziz, H., Berbar, A., Argente, M.J., 2021. Litter size component traits in two Algerian rabbit lines. *World Rabbit Science*. 29 (1), 51-58. <https://doi.org/10.4995/wrs.2021.14247>.

Beloumi D., Blasco, A., Muelas, R., Santacreu, M.A, Garcia, M.L., Argente, M.J., 2020. Inflammatory Correlated Response in Two Lines of Rabbit Selected Divergently for Litter Size Environmental Variability. *Animals*. 10 (9), 1540. <https://doi.org/10.3390/ani10091540>.

Blasco, A., 2017. *Bayesian data analysis for animal scientists*. Springer.

Blasco, A., Martínez-Álvarez, M., García, M.L., Ibáñez-Escriche, N., Argente, M.J., 2017. Selection for genetic environmental sensitivity of litter size in rabbits. *Genet. Sel. Evol.*, 49, 48-55.

Broom D.M., 2008. Welfare assessment and relevant ethical decisions: key concepts. *Annu Rev Biomed Sci*. 20, 79–90. <http://dx.doi.org/10.5016/1806-8774.2008.v10pT79>.

Calle, E.W., Garcia, M.L., Blasco, A., Argente, M.J., 2017. Correlated response in early embryonic development in rabbits selected for litter size variability. *World Rabbit Science*. 25 (4), 323-327. <https://doi.org/10.4995/wrs.2017.6340>.

García M.L., Argente M.J., Muelas R., Birlanga V., Blasco A., 2012. Effect of divergent selection for residual variance of litter size on health status and welfare. *World Rabbit Science*. 103-106.

García, M.L., Baselga, M., 2002. Estimation of genetic response to selection in litter size of rabbits using a cryopreserved population. *Livestock production science*. 74(1), 45-53. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00280-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00280-9).

Garcia, M.L., Blasco, A., Argente, M.J., 2016. Embryologic changes in rabbit lines selected for litter size variability. *Theriogenology*. 86(5), 1247-1250. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.04.065>.

Geisert R., Schmitt R., 2002. Early embryonic survival in the pig: Can it be improved? *Journal of Animal Science*. 80, 54-65. <https://doi.org/10.2527/animalsci2002.0021881200800ES10009x>.

Hunter, M.G., Robinson, R.S., Mann, G.E., Webb, R., 2004. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim Reprod Sci*. 83, 461-77. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.05.013>.

Mocé, M. L., Santacreu, M. A., Climent, A., Blasco, A., 2004. The effect of divergent selection for uterine capacity on prenatal survival in rabbits: Maternal and embryonic genetic effects, *Journal of Animal Science*. 82 (1), 68–73. <https://doi.org/10.2527/2004.82168x>.

Vicente J.S., Garcia-Ximénez F., 1996. Direct transfer of vitrified rabbit embryos. *Theriogenology*. 45 (4), 811-815. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(96\)00010-6](https://doi.org/10.1016/0093-691X(96)00010-6).

Viudes de Castro, M.P., Cortell, C., Vicente, J.S. 2010. Dextran vitrification media prevents mucin coat and zona pellucida damage in rabbit embryo. *Theriogenology*. 74, 1623-1628. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.06.034>.