



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA



MASTER INTERUNIVERSITARIO EN MEJORA GENÉTICA
ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Interacción del genotipo del macho con las condiciones de IA sobre la fertilidad y la prolificidad en conejo

Tesis de Master
Valencia, Octubre 2009

D.ª Llibertat Tusell Palomero

Director:

D.ª María Mercedes Piles Rovira

Codirector:

D. Manuel Baselga Izquierdo



Resumen

Diferencias en sensibilidad al ambiente entre individuos suponen la existencia de lo que se denomina interacción genotipo-medio (GxE). Así, podría existir una interacción entre el genotipo del macho con las condiciones de inseminación y/o el periodo de conservación de las dosis de inseminación artificial (IA). La existencia de esta interacción implicaría que se podrían escoger las condiciones que proporcionan el máximo progreso genético con la finalidad de optimizar el programa de mejora por la fertilidad y la prolificidad del macho en unas determinadas condiciones de utilización del semen.

Tras la monta natural o bajo condiciones comerciales de IA (donde se utilizan eyaculados altamente preseleccionados y dosis en fresco de elevada conservación espermática) la contribución del macho a la fertilidad y a la prolificidad es casi nula. Sin embargo, es bien conocido que fallos en la fertilización y la posterior embriogénesis son, en parte, de origen seminal. Cuando se utiliza IA, la tasa de fertilización depende del número y de la calidad de los espermatozoides entorno al momento de la inseminación. La variación genética individual de la fertilidad y la prolificidad del macho podría ser mejor observada bajo condiciones limitantes de IA, como por ejemplo, utilizar una baja concentración de espermatozoides, hacer una nula o muy leve preselección de los eyaculados por calidad seminal o alargar el periodo de conservación de las dosis.

El primer objetivo de éste estudio fue determinar si existen diferencias en varianza genética para la fertilidad y la prolificidad tras la IA utilizando semen a distintas concentraciones espermáticas y determinar si hay una interacción del genotipo del macho con este factor.

El segundo objetivo del estudio fue determinar si existe una interacción entre el genotipo del macho y otros factores involucrados en el proceso de inseminación en su conjunto (condiciones y duración del periodo de conservación de las dosis, tipo genético de la hembra y condiciones ambientales de granja).

El éxito o fracaso a la concepción (**F**) y el número total de gazapos nacidos por camada (**TB**) tras la IA bajo diferentes condiciones fueron considerados caracteres distintos y analizados en dos grupos de análisis independientes. Con la finalidad de determinar el efecto de la concentración de espermatozoides en estos caracteres, se realizaron inseminaciones a 10 y 40 $\times 10^6$ espermatozoides/mL resultando en 6,613 y 3,379 datos para F y TB, respectivamente. Para la determinación del efecto de las otras condiciones de IA, se realizaron inseminaciones con dosis que diferían en período de conservación, diluyente y condiciones ambientales resultando en

13,156 y 7,704 datos para F y TB, respectivamente. Se asumieron modelos umbral y lineales bivariantes para F y TB, respectivamente.

La concentración de espermatozoides en la dosis de IA tuvo un claro efecto sobre la F y el TB, a favor de la concentración más alta (-0.13% y -1.25 gazapos nacidos, respectivamente), siendo TB más sensible que la F a esta reducción. La heredabilidades obtenidas fueron 0.09 para la F con ambas concentraciones y 0.08 y 0.06 para TB para baja y alta concentración, respectivamente. No se encontró interacción del genotipo del macho con la concentración de espermatozoides en la dosis de inseminación. Por lo tanto, la selección para mejorar la F y el TB podría realizarse a cualquier concentración espermática, dentro del intervalo estudiado. Sin embargo, bajo estas condiciones, la selección para mejorar la F y el TB podría ser mayor que la respuesta esperada tras la monta natural o tras la IA con dosis no conservadas, dado que la varianza aditiva del macho obtenida fue mayor.

Además de la concentración espermática, otros factores relacionados con el proceso de IA también tuvieron un efecto importante sobre la F, pero éste no se detectó para TB. No obstante, en ambos casos, había evidencia de interacción entre el genotipo del macho y las condiciones de IA, indicando que, probablemente, haya diferencias entre machos en la capacidad de mantener las características seminales durante el periodo de conservación, que resulten en diferencias en F y TB. Así, sería posible cambiar la resistencia del semen a la conservación por selección genética.

Abstract

Genotype by environment interaction (GxE) appears when there are differences in environmental sensitivity between individuals. Thus, it could exist an interaction between the male genotype and the insemination and/or the storage conditions of the AI dose. The existence of this interaction also implies that the conditions that gives the maximum genetic progress could be chosen in order to optimize the breeding program for male fertility and prolificacy for a given conditions of semen utilization.

After NM or under commercial AI conditions (using high-preselected ejaculates and fresh doses at high sperm concentration) male contribution to fertility and prolificacy is almost null. However, failures in fertilization or embryogenesis have been shown to be in part of semen origin. When artificial insemination (**AI**) is practiced, fertilization rate depend on the number and quality of the spermatozoa of the dose of insemination around the application time. Individual variation of male effect on fertility and prolificacy could also depend on these factors and it could be better observed under limited conditions of AI, such as, low sperm concentration, small or null pre-selection of the ejaculates for any semen quality trait, or long storage period of the AI doses.

The first aim of this research was to determine if differences in genetic variance for male fertility and prolificacy can be observed after AI using high and low sperm dosage. The interaction between the male genotype with this factor was also estimated.

The second aim was to determine if there exist an interaction between male genotype and other factors involved in the AI process as a whole (conditions and duration of the storage period of the dose, genetic type of the female and environmental conditions of the farm).

Male success or failure to conception (**F**) and total number of kids born per litter (**TB**) after AI under different conditions were assumed to be different traits, and analyzed in a two sets of independent analyses. In order to determine the effect of sperm concentration on these traits, AI were performed at 10 and 40 x10⁶ spermatozoa /mL leading to 6,613 and 3,379 records for F and TB, respectively. To determine the effect of other conditions, AI was performed using doses that differed in the storage period, extender, and environmental conditions leading to 13,156 and 7,704 records for F and TB, respectively. Threshold and linear two-trait models were assumed for F and TB, respectively.

The sperm dosage had a clear effect on F and TB, in favor of the higher dosage (-0.13% and -1.25 kids born, respectively), being TB more sensitive to this reduction than F. Heritabilities for F were 0.09 for both sperm dosage, and 0.08 and 0.06 for TB with low and high sperm dosage, respectively. No genotype x sperm dosage interaction was found. Therefore, selection to improve male F and TB could be done at any sperm concentration. Under these conditions, response to selection could be higher than expected response after natural mating or AI with fresh doses, since male additive variance for both traits is higher. Besides of sperm dosage, other factors involved in the AI process had also an important effect on F but no effect was detected on TB, but in both cases, there was some evidence of an interaction between male genotype and the AI conditions, indicating that probably there are differences between males in the ability to maintain their seminal characteristics after storage, resulting also in differences in their fertilizing potential. Thus, it could be possible to change sperm conservation sensitivity with genetic selection.

Índice

Introducción	1
1. Inseminación artificial en conejo y posibilidades de mejora	3
2. Fertilidad y prolificidad	6
2.1. Tipos de medidas	6
2.2. Efecto de la hembra en la fertilidad y la prolificidad	8
2.2.1. Factores genéticos y ambientales de la fertilidad y la prolificidad de la hembra	8
2.3. Efecto del macho en la fertilidad y la prolificidad	9
2.3.1. Parámetros genéticos y ambientales de la fertilidad y prolificidad del macho	9
2.3.2. ¿Por qué no detectamos variabilidad genética del macho para fertilidad y prolificidad en condiciones comerciales?	11
2.3.3. Efecto de las características de calidad seminal compensables en la variabilidad del macho para fertilidad y prolificidad	15

3. Efecto de la interacción del genotipo del macho con las condiciones de IA sobre la fertilidad y la prolificidad	16
3.1. Definición de GxE	16
3.2. Métodos de análisis de GxE	18
3.2.1. Modelo Multicarácter	18
3.2.2. Modelo de Norma de Reacción	19
3.3. Interacción del genotipo del macho con las condiciones de IA sobre la fertilidad y la prolificidad en conejo	21
Artículo	23
<i>Genotype x AI conditions interaction for male effect on fertility and prolificacy in rabbit</i>	25
3.3.1. Introduction	27
3.3.2. Material and methods	27
3.3.3. Results and discussion	34
3.3.3.1. Effect of the concentration of the AI dose and interaction with male genotype	34
3.3.3.2. Effect of the AI conditions and its interaction with male genotype	37
3.3.4. Implications	41
3.3.5. Literature cited	53
Referencias bibliográficas	56

Índice de tablas

Table 1.	Summary statistics for fertility (F_i) and number of total born (TB_i) data across the three different types of AI doses ($i=10^1, 40^2, X^3$)	43
Table 2.	Definition and number of levels of fixed effects for fertility (F_i) and total number of kids born (TB_i) at different AI conditions ($i=10^1, 40^2, 1040^3, X^4$)	44
Table 3.	Structure of the (co)variance matrices assumed for fertility and total number of kids born in the two groups of analysis	45
Table 4.	Table 4. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distributions of phenotypic variance (σ^2), heritability (h^2) and ratios of variation due to: the male non additive genetic plus environmental permanent effects (p_m), the female effects (p_f) and the environmental permanent effects of male and day of AI (p_{md}) for fertility (F_i) and total number of kids born (TB_i) with different AI conditions ($i=10^1, 40^2$).	46

Table 5. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distributions of phenotypic variance (σ^2), heritability (h^2) and ratios of variation due to: the male non additive genetic plus environmental permanent effects (pm), the female effects (pf) and the environmental permanent effects of male and day of AI (pmd) for fertility (F_i) and total number of kids born (TB $_i$) with different AI conditions ($i=10401, X^2$). 47

Table 6. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distribution of genetic correlation (rg) and variance of the genotype per type of AI dose interaction σ_{GXE}^2 for fertility (F_i) and total number of kids born (TB $_i$) at different AI conditions ($i=10^1, 40^2, 1040^3, X^4$). 48

Índice de figuras

Figura 1.	Curva hipotética de dosis-respuesta de la fertilidad en función de la concentración	12
Figura 2.	Funciones hipotéticas de densidad de fertilidad de una población de machos a concentración espermática constante	14
Figura 3.	Tipos de respuesta fenotípica a lo largo de una variación ambiental en ausencia o presencia de GxE	18
Figura 4.	Estimated marginal posterior distribution of the difference between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=10^1, 40^2$)	49

- Figura 5.** Estimated marginal posterior distribution of ratio between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=10^1, 40^2$) 50
- Figura 6.** Estimated marginal posterior distribution of the difference between fertility in the observed scale (F_i) and number total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=1040^1, X^2$) 51
- Figura 7.** Estimated marginal posterior distribution of ratio between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=1040^1, X^2$) 52

Introducción

1. Inseminación artificial en conejo y posibilidades de mejora

Los avances tecnológicos conseguidos en los últimos años en la valoración, el procesado y la conservación del semen de conejo, han permitido obtener muy buenos resultados de fertilidad y tamaño de camada con el uso de la inseminación artificial (IA) (80% de fertilidad y 10.26 nacidos totales de promedio; datos RENACEB 2007 citados por Jentzer, 2008). Estos resultados, unidos a las ventajas que comporta su uso en cuanto a la reducción (total o parcial) del número de machos en la explotación, el manejo de un mayor número de hembras, el ahorro en mano de obra, la reducción de problemas zoonosarios y la posibilidad de utilizar semen procedente de machos de alto valor genético para crecimiento y conversión de pienso en carne, han propiciado la expansión del uso de la IA en las granjas comerciales de conejo a partir de los años 80 (Ramon, 2002; García-Tomás, 2006).

Con la utilización de la IA, el macho cobra una mayor importancia dado que el semen de un mismo macho va a repercutir en los resultados productivos de un gran número de hembras reproductoras (Morrell, 1995; Foote, 2003). Por tanto, es necesario conocer bien cómo hacer una buena selección y explotación de los machos en los centros de IA para producir el máximo número de dosis por jaula, sin comprometer con ello los resultados de fertilidad y prolificidad de las granjas comerciales. Para ello y también para la buena gestión de las dosis producidas en los centros de IA, se deben conocer cuáles son los parámetros de calidad seminal que guardan una mayor relación con la fertilidad y prolificidad del macho (DeJarnette y col., 2004). Muchos autores han estudiado la relación entre concentración de espermatozoides y la fertilidad y prolificidad con la finalidad de determinar cuál es la concentración mínima de la dosis de inseminación que no comprometa estos caracteres (Farrell y col., 1993; Viudes-de-Castro y Vicente, 1997; Vicente y col., 2000). La motilidad ha sido una de las características más utilizadas para evaluar la capacidad fecundante del semen, presentando correlaciones moderadas con la fertilidad (Farrell y col., 1993; Brun y col., 2002; Lavara y col., 2005; Garcia-Tomas y col., 2006). La relación entre la integridad de membrana y la fertilidad ha dado resultados contradictorios en diversos estudios en las distintas especies en las que se ha analizado: algunos trabajos muestran correlaciones positivas moderadas (Correa y col., 1997; Pérez-Llano y col., 2001) y

otros, correlaciones nulas (Rota y col., 2000; Alm y col., 2001). La proporción de espermatozoides en el eyaculado con acrosomas normales guarda una relación positiva con la fertilidad (Courtens y col., 1994; Pesch y col., 2006), mientras que el aumento del porcentaje de espermatozoides que presentan anomalías morfológicas, como la presencia de gotas citoplasmáticas proximales y distales y las anomalías de cabeza y de cola, provoca una disminución de la fertilidad (Gadea y col., 2004b; Lavara y col., 2005; Garcia-Tomas y col., 2006). Por otro lado, parece ser que las proteínas del plasma seminal tienen un efecto beneficioso sobre la capacidad fertilizante de los espermatozoides (Castellini y col., 2000). La capacidad de predicción de fertilidad de los caracteres de calidad seminal descritos hasta el momento, es todavía baja. Utilizar diferentes medidas en un índice combinado, podría ayudar a mejorar la predicción (Lavara y col., 2005) pero es necesario encontrar nuevas variables de calidad seminal más informativas que las actuales (Braundmeier y Miller, 2001), algunas de las cuales podrían estar relacionadas con el mantenimiento de las características de los espermatozoides durante el periodo de conservación de las dosis. Conocida la relación entre los caracteres de calidad seminal y la fertilidad y prolificidad del macho, es importante determinar si existe variación genética individual en los parámetros de calidad seminal más importantes y cuya evaluación sea menos costosa, que permita la selección de los machos para la mejora indirecta de la fertilidad y la prolificidad de las líneas paternas o bien, para un uso más eficiente de los mismos, en cuanto a una mayor producción de dosis útiles.

Por otro lado, a medida que aumenta el tiempo de conservación del semen se produce un deterioro progresivo en su calidad, debido a la formación de radicales libres de oxígeno que dañan tanto las membranas espermáticas como el ADN mitocondrial y nuclear (Vishwanath y Shannon, 1997); esto da lugar a una reducción en su capacidad fecundante. Muchos autores han estudiado el efecto del tiempo de conservación (24-96 horas a 16-18°C) sobre la calidad y capacidad fecundante del semen refrigerado de conejo, y han observado disminución tanto en la calidad seminal (Roca y col., 2000; Rosato y col., 2006) como en la fertilidad y la prolificidad (López y col., 1996; Roca y col., 2000) a partir de las 48 horas de conservación. Debido a esta disminución de la capacidad fecundante del semen a medida que aumenta el tiempo de conservación, la mayor parte de las inseminaciones realizadas en granjas comerciales de conejo utilizan semen fresco (hasta 12 horas después de la recogida) o semen refrigerado a corto plazo (hasta

24 horas), resultando un porcentaje de fertilidad de entre 60 y 80% y una prolificidad similar a la monta natural (Vicente, 2001).

La limitación en el tiempo de conservación tiene importantes consecuencias negativas tanto a nivel de producción y comercialización de las dosis seminales, como a nivel de gestión y uso eficiente de los machos en los centros de inseminación artificial, como a nivel de organización y planificación del trabajo en los mismos.

En primer lugar, debido a los efectos de estacionalidad sobre la producción y calidad espermática, para mantener el número de dosis producidas y la calidad de las mismas es necesario disponer de una mayor cantidad de machos activos en determinados periodos del año. Esto supone una serie de problemas de costes y organizativos como son:

- Una irregular ocupación del espacio en el centro de inseminación.
- Un incremento en los gastos fijos (jaulas y otros equipos) y variables (pienso, medicamentos y análisis clínicos, etc) por dosis producida.
- Una gestión de la reposición variable a lo largo del año.
- Una desigual planificación, organización del trabajo y necesidad de mano de obra los en diferentes periodos del año.

En segundo lugar, un periodo reducido de conservación del semen implica una restricción en las áreas de distribución de las dosis seminales limitándose a granjas comerciales situadas a no muy grandes distancias del centro de producción además de un elevado coste de comercialización. Esto limita la expansión del centro de inseminación puesto que dificulta la adquisición de nuevos clientes e impide la exportación de semen a otros países.

La *refrigeración a medio y largo plazo* y la *congelación* del semen en condiciones que mantengan su capacidad fecundante son la solución a estas limitaciones ya que permiten distanciar, en tiempo y espacio, la producción de las dosis seminales de su uso haciendo posible la distribución a grandes distancias del centro de producción, el mantenimiento de stocks y una gestión más eficiente y racional de los machos de alto valor genético y del semen producido por estos. En este sentido, se hace necesaria la determinación de aquellas características de calidad seminal, con efecto sobre la fertilidad y el tamaño de camada, que más sensibles son al tiempo y a las condiciones de conservación. De nuevo, en caso de existir suficiente variabilidad genética para la estabilidad de estos caracteres, se podría mejorar mediante selección genética la resistencia a la conservación de las dosis de IA.

En ambos casos, sea para mejorar la producción de los machos en las granjas comerciales (Kg de carne) o en los centros de IA (numero de dosis útiles) o sea para mejorar la gestión del semen en los centros de IA (capacidad de conservación), podría existir una interacción del genotipo del macho con las condiciones de inseminación y/o conservación de las dosis. Esto implicaría que se podrían escoger las condiciones que proporcionan el máximo progreso genético para fertilidad y prolificidad para unas determinadas condiciones de utilización del semen. Para ello debería calcularse el progreso genético en dichas condiciones como respuesta correlacionada a la selección en otras condiciones (Kolmodin, 2003).

2. Fertilidad y prolificidad

2.1. Tipos de medidas

Thaller (1998) clasificaba en tres grupos distintos las diferentes medidas de fertilidad que son utilizadas en producción animal: intervalos de tiempo, tasas de concepción y medidas fisiológicas indirectas.

Con las medidas de **intervalos de tiempo**, muy utilizadas en vacuno para valorar la fertilidad de las hembras, se asume que un animal es más rentable cuanto menos tiempo transcurre entre el parto anterior y la siguiente gestación. Son medidas de fertilidad continuas, que siguen una distribución normal y que aportan información sobre la eficacia de la reproducción por unidad de tiempo. Algunas de ellas son el *intervalo entre partos*, *intervalo desde el parto a la primera o a la última inseminación*, *intervalo entre primera y última inseminación*, *los días transcurridos entre el parto y la primera inseminación* *intervalo entre la primera y última inseminación*, *número de inseminaciones por parto*, etc. No hay un consenso sobre cuál de estas medidas es mejor. Por ejemplo, el intervalo entre partos, que es una de las más utilizadas, requiere de tiempo para su obtención y puede ser sesgada por no disponer datos de las hembras de primer parto o de las infértiles a la primera inseminación. Muchas de estas mediciones presentan alta incidencia de datos censurados como por ejemplo registros de animales incompletos o de los que no se ha obtenido gestación en la última inseminación (González-Recio, 2006).

Las **tasas de concepción** proporcionan información sobre el éxito del animal en la cubrición o inseminación. *El ratio o porcentaje de gestaciones* respecto al total de inseminaciones o cubriciones es una medida global de los resultados del individuo a lo largo de un periodo (toda su vida reproductiva o parte de ella). Presenta la ventaja de que es una de carácter continuo pero, al ser una medida resumen, no permite corregir por los factores ambientales inherentes a cada dato reproductivo (por ejemplo el año-estación, la edad del individuo, el estado fisiológico de la hembra, el efecto del otro individuo que ha intervenido en el cruzamiento, etc.). Otro inconveniente es que para tener una información suficientemente fiable, se requieren cierto número de datos por individuo y la obtención de ésta medida es tardía, especialmente en especies de larga gestación. La fertilidad como *éxito o fracaso a la concepción*, a diferencia de la tasa de concepción, permite corregir por todos aquellos factores que hubieran podido afectar al resultado de una determinada inseminación o cubrición. Otra ventaja es que son de evaluación temprana. Sin embargo, los datos de un mismo individuo son forzosamente tratados, sin un orden cronológico que permitiría tener en cuenta la influencia del resultado de inseminaciones anteriores (aunque si se puede corregir por algún factor indicativo del estado del animal a causa del resultado de su ciclo reproductivo anterior, como sería el estado fisiológico de la hembra en el momento de la inseminación). Finalmente, su naturaleza binaria (si o no) hace que su análisis sea más complejo (Gianola, 1982).

El **tamaño de camada** podría ser considerado en especies prolíficas como otra medida de fertilidad. Swierstra and Dyck (1976) obtuvieron una correlación de 0.80 entre tasa de concepción y tamaño de camada promedio de los verracos. Tusell et al. (2009) obtuvieron una correlación genética de 0.97 analizando conjuntamente la fertilidad del macho (definida como éxito o fracaso a la inseminación) y el total de gazapos nacidos por camada. El tamaño de camada en conejos, se mide en tres momentos diferentes: *al nacimiento, al destete o al sacrificio*. Cada una de ellas proporciona una información distinta: la primera indica la fecundidad y la capacidad de llevar a cabo la gestación, mientras que el tamaño de camada tras el destete es además un indicador de la capacidad de producción de leche y la aptitud maternal de la hembra para la cría de sus gazapos; finalmente, la medida al sacrificio es la más interesante económicamente pero la que presenta mayor intervalo generacional (Santacreu, 2002). El tamaño de camada es fácil de medir y, aunque se mide en números enteros, se puede considerar que sigue una distribución gaussiana.

Finalmente, debido a las bajas heredabilidades que presentan los caracteres de fertilidad y prolificidad, podrían ser evaluados y mejorados indirectamente a través de diversos **caracteres fisiológicos** como por ejemplo los *niveles hormonales* en hembras o la *calidad seminal* en los machos que podrían ser indicadores de su fertilidad. La medición hormonal es muy sensible a variación ambiental y costosa económicamente. Sin embargo, la predicción de fertilidad mediante características de calidad seminal es necesaria y podría ser factible.

2.2. Efecto de la hembra en la fertilidad y la prolificidad

La hembra debe producir, almacenar y ovular oocitos normales y proporcionar un ambiente compatible con el transporte espermático, la capacitación y la fertilización de los oocitos. Además, es en la hembra donde se produce el desarrollo embrionario y fetal, el parto, y también es ella la encargada de llevar a cabo la lactación de las crías. Así pues, debido a que ejerce su influencia durante un intervalo de tiempo mayor en relación al macho, la contribución de la hembra en la reproducción ha sido considerada más importante que la del macho (Berger, 1998), atribuyéndose normalmente a ella los caracteres de fertilidad y tamaño de camada.

2.2.1. Factores genéticos y ambientales de la fertilidad y la prolificidad de la hembra

Los caracteres reproductivos en general, presentan unas heredabilidades (h^2) bajas y son muy influenciados por el ambiente y el manejo. No obstante, hay un consenso en que presentan variabilidad genética suficiente por la que se podría seleccionar (Thaller, 1998).

Fertilidad de la hembra

En un estudio en conejo con una línea paternal y una maternal, las h^2 obtenidas para la fertilidad (como éxito o fracaso a la concepción) de la hembra tras la MN fueron similares (alrededor de 0.06) en ambas líneas analizadas mientras que la repetibilidad obtenida fue de 0.184 y 0.293, respectivamente (Piles y col., 2006). La h^2 de ésta misma medida de fertilidad en el caso de la hembra de porcino se estimó en 0.04 (Varona y Noguera, 2001). Las h^2 para la tasa de no retorno a los 56 días obtenidas en vacuno lechero por distintos autores oscilaron entre 0.02 a 0.04 (Weller y Ron, 1992; Boichard y Manfredi, 1994; Weigel y Rekaya, 2000)

En porcino, las h^2 para las medidas de fertilidad en los intervalos de destete-inseminación, destete-gestación y destete-parto fueron de 0.12, 0.08 y 0.08, respectivamente (Adamec y Johnson, 1997). En vacuno las h^2 y repeatibilidades obtenidas para fertilidad en diferentes medidas de intervalo oscilaron entre 0.04 y 0.15 (Toghiani Pozveh y col., 2009; Yagüe y col., 2009).

Prolificidad de la hembra

Piles et al. (2006), analizaron de distintos caracteres de prolificidad de tres líneas maternas obteniendo las siguientes h^2 en la hembra de conejo: entre 0.10 y 0.14 para número de nacidos totales, entre 0.07 y 0.12 para número de nacidos vivos y 0.04 a 0.11 para número de destetados, siendo las h^2 obtenidas en los distintos partos (tratados como caracteres distintos) más elevadas que la medida de h^2 general bajo el modelo de repeatibilidad. Tratando el número de nacidos totales en distintos partos como caracteres distintos (Noguera y col., 2002), la heredabilidad obtenida de la hembra fue de 0.06 en el primer parto a 0.15 en el sexto, siendo la h^2 promedio para todos los partos muy parecida a la obtenida por otros autores en la misma especie (Haley y col., 1988; Lamberson, 1990; Rothschild y Bidanel, 1998).

2.3. Efecto del macho en la fertilidad y la prolificidad

El macho de IA debe producir un eyaculado con espermatozoides potencialmente fértiles, capaces de progresar por el tracto reproductivo de la hembra y llegar al lugar de fecundación, realizar la capacitación, contactar con la zona pelúcida, penetrar en el ovocito y proporcionar un juego normal de cromosomas haploides al oocito para que se produzca la fusión gamética entre ambos (Foote, 2003). Por otra parte, el semen destinado a inseminación artificial debe tener unas características que le permitan mantener su calidad durante su procesado para la preparación de las dosis y durante el periodo de conservación de las mismas (si lo hay).

Aunque la intervención del macho en el proceso reproductivo es de menor duración que la de la hembra (desde el apareamiento o IA hasta la fase inicial del desarrollo

embrionario) no por ello es menos importante, especialmente desde la introducción de la IA como método reproductivo.

2.3.1. Parámetros genéticos y ambientales de la fertilidad y la prolificidad del macho

Existen pocos trabajos publicados en los que se haya analizado la contribución genética del macho a la fertilidad o al tamaño de camada, pues como ya se ha mencionado, la contribución de la hembra se considera más importante.

Fertilidad del macho

En dos líneas de conejos, Piles et al. (2005) analizaron los parámetros genéticos de la fertilidad como éxito o fracaso a la concepción tras la monta natural (**MN**). Las h^2 obtenidas para la fertilidad del macho fueron muy bajas: 0.013 para la línea paterna y 0.010 para la materna. Los efectos genéticos no aditivos y permanentes de tipo ambiental debidos al macho también fueron de poca magnitud, no superando el 7% de la variación total en ninguna de las dos líneas.

Analizando el éxito a la inseminación en porcino y tras la IA en condiciones comerciales, Varona and Noguera (2001) obtuvieron una h^2 para la fertilidad del macho de 0.028. A consecuencia de las bajas h^2 obtenidas para la fertilidad del macho sugirieron analizar las correlaciones genéticas con otros caracteres para una posible selección indirecta.

En los modelos para la fertilidad de vacas en Estados Unidos, el componente genético del macho se ignora y únicamente se considera un efecto permanente de macho con el que se obtiene una predicción fenotípica de los mismos (Weigel y Rekaya, 2000; Clay y McDaniel, 2001). Khun and Hutchison (2008) pensaron que quizás podría ayudar a mejorar la precisión de la predicción de la fertilidad de la hembra el expandir el término relativo al macho en el modelo incluyendo, entre otros factores, un componente genético. Aunque con la expansión del término consiguieron mejorar la precisión mediante el aporte de información de los otros componentes, la h^2 obtenida para el macho fue nula, por lo que también sugirieron no considerarla en futuras predicciones de fertilidad.

Prolificidad del macho

Los porcentajes de variación fenotípica debidos al macho de conejo para tamaño de camada tras la MN son también muy bajos: 3% para nacidos totales, 2% para nacidos vivos y de 1% para número de destetados (Piles y col., 2006). En porcino, See et al. (1993) y Van der Lende et al. (1999) constataron que la proporción de varianza fenotípica debida al macho del número de nacidos vivos fue de 0.01 a 0.03; Hamann et al. (2004) obtuvieron unas h^2 del 3 y del 5 % para primer parto y partos siguientes, respectivamente.

Estos valores indican que los caracteres de prolificidad en las especies prolíficas están básicamente determinados por la hembra (h^2 des de 0.04 hasta 0.14) mientras que el macho tiene muy poca influencia en ellos. Este fenómeno puede ser debido a varios motivos. Por un lado, el papel del macho es determinante en el éxito o el fracaso a la concepción, pero, una vez los oocitos son fertilizados, la capacidad de gestación de hembra ejerce más influencia en el número de embriones que llegan al nacimiento. Por otro lado, para la evaluación del tamaño de camada sólo se tienen en cuenta los datos de las cubriciones que han resultado en un parto, reduciéndose en consecuencia la variabilidad debida al macho para éste carácter puesto que por una parte se eliminan los datos de inseminaciones infértiles (parte de ellas debidas al macho) y por otra parte, al haber en las especies prolíficas (conejo, cerdo) reabsorciones embrionarias en aquellas gestaciones en las que hay un número reducido de embriones (Rosell, 2000) se eliminan datos que corresponderían a machos sub-fértiles.

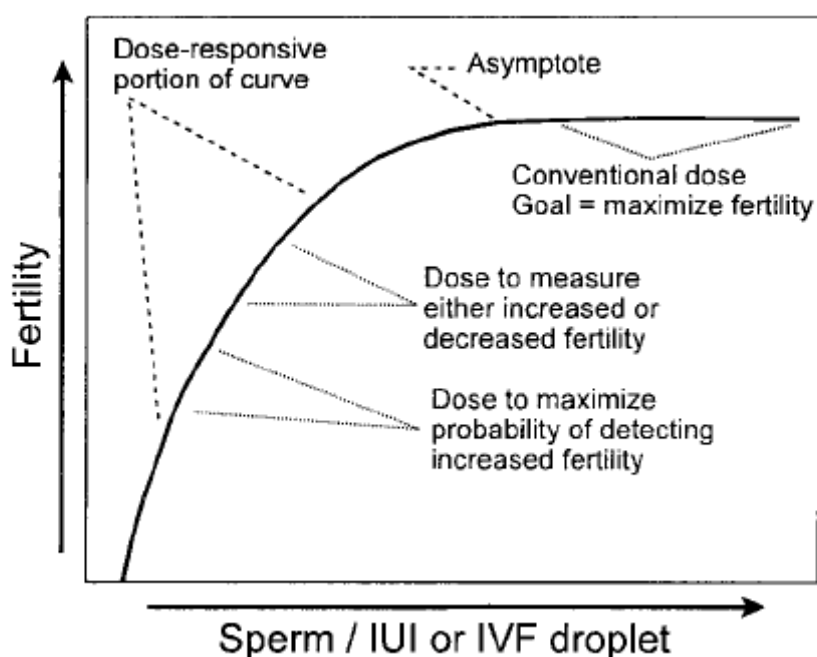
2.3.2. ¿Por qué no detectamos variabilidad genética del macho para fertilidad y prolificidad en condiciones comerciales?

De los estudios anteriores, se desprende que cuando la aptitud reproductiva de los machos es evaluada tras MN o tras la IA en condiciones comerciales, la variabilidad genética debida al macho es prácticamente inexistente. En estas condiciones, la cantidad de espermatozoides es muy elevada y la mayor parte de los machos utilizados exceden el umbral para fertilizar. Además, en IA sólo se utilizan aquellos eyaculados que presentan buena calidad seminal (DeJarnette y col., 2004) y también se practica una selección de los machos por su producción de dosis útiles. Lógicamente, estas condiciones son las adecuadas si se pretende maximizar la probabilidad de fertilizar el máximo número de oocitos posible, pero

no permiten detectar diferencias entre machos en su capacidad de fertilización (Amann y Hammerstedt, 2002; Gadea y col., 2004a).

La Figura 1 (tomada de Amann and Hammerstedt 2002) muestra una curva hipotética de dosis-respuesta de la fertilidad en función de la concentración de espermatozoides. En el caso de la fertilidad tras la MN o la IA nos encontraríamos en la porción asintótica de la curva, donde la elevada concentración de espermatozoides es suficiente como para que todos los machos alcancen el umbral de fertilidad. Sin embargo donde observaríamos mayores diferencias entre individuos sería en la porción denominada "dosis-respuesta". Por ello, Amann and Hammerstedt (2002) recomendaban el uso de un número limitado de espermatozoides para poder detectar diferencias en fertilidad entre machos. Alargar el tiempo de conservación de las dosis también favorecería la detección de diferencias entre machos, porque las condiciones de inseminación aún serían más restrictivas. Evidentemente, las condiciones de inseminación deben limitarse hasta cierto punto, puesto que el uso de una concentración muy baja o un periodo de conservación demasiado prolongado, nos pondría de nuevo, aunque por efecto contrario, en la situación de no detectar diferencias entre individuos en fertilidad.

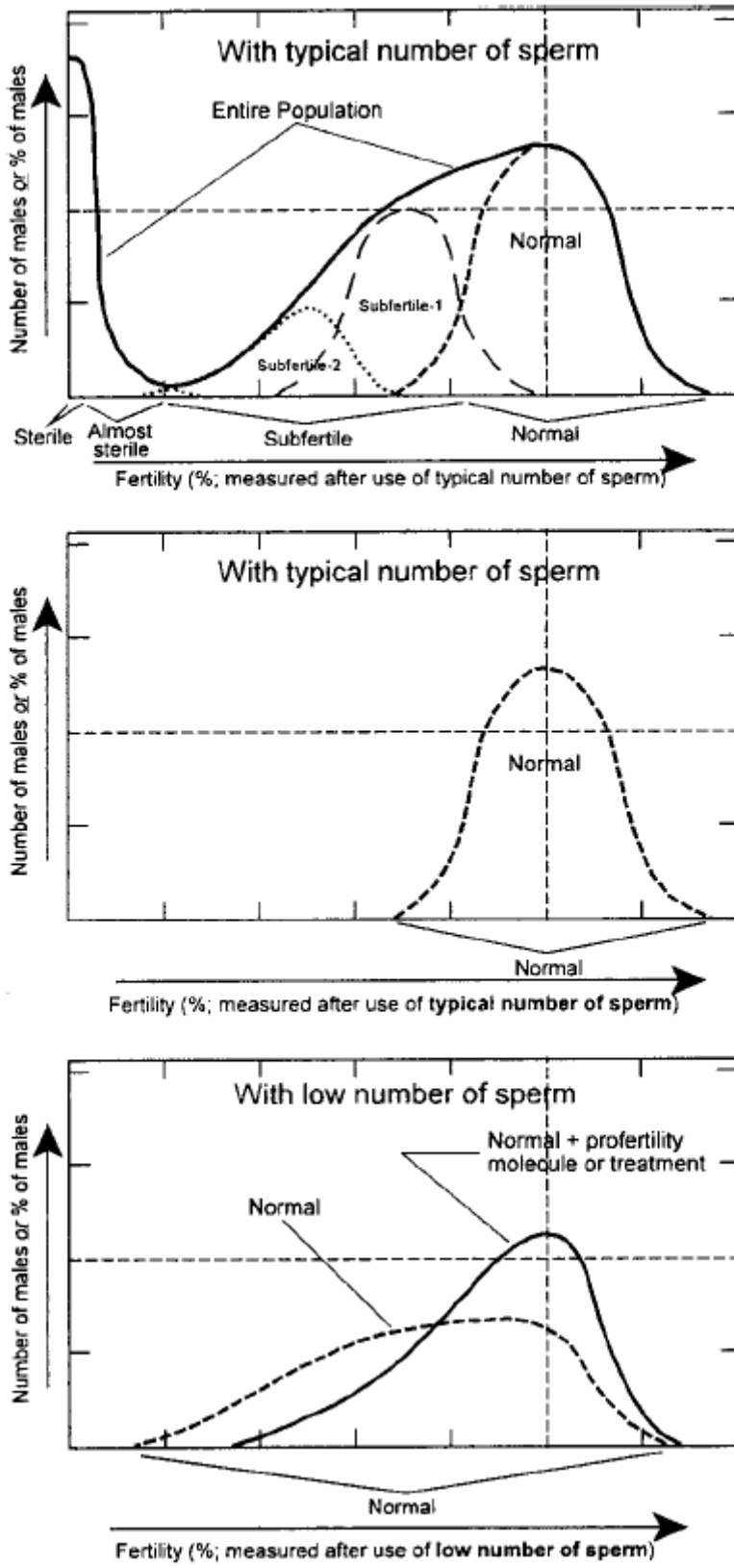
Figura 1 (tomada de Amann y Hammerstedt, 2002)



La fuerte preselección por calidad seminal de los eyaculados y de los machos que van ser utilizados en IA es otro factor que dificulta la detección de variabilidad entre machos para fertilidad. En las evaluaciones rutinarias de los centros de IA de conejos se excluyen, generalmente, un gran número de eyaculados por baja motilidad, poca viabilidad % y presencia excesiva de formas anormales (Lavara y col., 2005). Además de la selección de los eyaculados, en los centros de IA hay una fuerte eliminación de machos por deficiencias de calidad seminal (presencia de orina en los eyaculados, azoospermia, acrosomías, repetida baja motilidad; Rosell y de la Fuente, 2009), falta de libido o rechazo a la vagina artificial, de los que no se van a tener datos de fertilidad in vivo, contribuyendo también a la disminución de la variabilidad.

El óptimo para detectar mayor variabilidad entre machos sería aquel en que la fertilidad promedio se encuentra alrededor del 50%. Sin embargo, éste no es el caso del vacuno lechero donde prácticamente no se observan diferencias entre machos y sin embargo la tasa de concepción ha disminuido drásticamente de un 52% en los años 70 a un 34% a finales de los 90 (Washburn y col., 2002). En éste caso, aunque las inseminaciones son con dosis congeladas, el semen ha estado altamente seleccionado y la baja fertilidad es más bien debida a problemas reproductivos de la hembra derivados del manejo y la alta producción. Éste es un claro ejemplo de la modulación que ejercen otros factores, ajenos al macho, en la curva de dosis-respuesta de fertilidad y concentración.

Figura 2 (tomada de Amann y Hammerstedt, 2002)



En el panel superior de la figura 2 (tomada de Amann and Hammerstedt 2002), se muestra la función de densidad de fertilidad de una población de machos (línea continua) a concentración espermática constante. Como puede observarse, presenta una forma bimodal. Desglosando la curva en grupos de individuos, podemos ver que en el pico de la izquierda estarían los machos estériles o con graves problemas de fertilidad, mientras que el resto de la población se distribuiría en torno al otro máximo de la distribución presentando una cola alargada hacia la izquierda. En éste segundo grupo de individuos se encontrarían los machos con fertilidades normales y hacia la cola de la izquierda los machos subfértiles. El panel del medio de la Figura 2, nos serviría para ilustrar lo que ocurre en condiciones óptimas de inseminación: por un lado, la cola de la izquierda ya no se observa porque aquellos animales estériles o con graves problemas de fertilidad ya han sido descartados para inseminación. Por otro lado, el resto de la población se encuentra recogida dentro de una distribución Normal con desviación típica reducida, por lo que apenas detectamos variabilidad entre los individuos que la conforman. En cambio, limitando las condiciones de las dosis de inseminación (reduciendo el número de espermatozoides por dosis y alargando el periodo de conservación) nos encontraríamos con la curva representada en línea discontinua en el panel inferior de la Figura 2: la distribución de densidad de los individuos es Normal, con una ligera asimetría de izquierda y con una desviación típica mayor; como consecuencia de que, al restringir las condiciones de IA, las diferencias entre machos en cuanto a su fertilidad se han agrandado (ahora, los individuos subfértiles ya no se comportan como los fértiles).

2.3.3. Efecto de las características de calidad seminal compensables en la variabilidad del macho para fertilidad y prolificidad

Numerosos autores coinciden en clasificar los caracteres de calidad seminal en dos grupos: compensables y no compensables (Saacke y col., 1994; Den Daas y col., 1998; Saacke y col., 2000).

Los caracteres de calidad seminal *compensables* son aquellos cuyas deficiencias pueden ser corregidas aumentando el número de espermatozoides en la dosis de IA. Este grupo de características son las responsables de que no se detecten diferencias individuales en fertilidad y prolificidad cuando se insemina en condiciones comerciales a alta concentración o cuando se realiza MN. Se consideran factores compensables la motilidad, la viabilidad, normalidad acrosómica y las

anomalías morfológicas de los espermatozoides, así como aquellos caracteres funcionales y moleculares que pudieran estar relacionados con la hiperactivación y la capacitación de los espermatozoides en el oviducto (Saacke y col., 2000).

Las diferencias entre machos para fertilidad y prolificidad que no pueden ser eliminadas aumentando la concentración de espermatozoides en la dosis de inseminación son las debidas a deficiencias en características de calidad seminal denominadas *no-compensables*. Estas deficiencias están asociadas a la imposibilidad del espermatozoide de mantener el proceso de fertilización y posterior desarrollo embrionario una vez iniciado, tratándose principalmente de deficiencias en la calidad de la cromatina que afectarían a la estabilidad ADN (Saacke y col., 2000).

La dilución del semen comporta, por otra parte, la dilución del plasma seminal lo que pudiera tener un efecto sobre la fertilidad y la prolificidad. La cantidad y composición del plasma seminal favorece la fertilización porque estimula la motilidad, protege la integridad de membrana e interviene en las propiedades de unión de superficie de membrana de los espermatozoides (Maxwell y Johnson, 1999).

Si más variabilidad fenotípica para fertilidad y prolificidad es detectada bajo condiciones limitantes de IA (baja concentración de espermatozoides, ninguna pre-selección de los eyaculados por caracteres de calidad seminal...) debido a que se ponen de manifiesto las deficiencias en características de calidad seminal compensables, es posible que también se observe una mayor variabilidad genética, lo que se traduciría en una mayor precisión de las estimas de los parámetros genéticos de fertilidad y prolificidad del macho y posiblemente en un mayor progreso genético si se practicara selección por alguno de estos caracteres.

3. Efecto de la interacción del genotipo del macho con las condiciones de IA sobre la fertilidad y la prolificidad

3.1. Definición de GxE

Los seres vivos tienen la capacidad de responder frente a variaciones ambientales mediante cambios, fisiológicos, bioquímicos o de comportamiento. Esta respuesta, que tiene una base genética, se denomina plasticidad fenotípica o

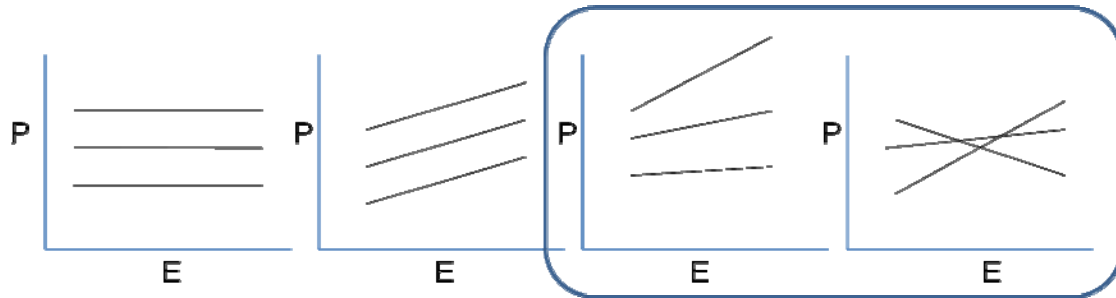
sensibilidad ambiental y es la responsable, en condiciones naturales, de que aquellos individuos mejor adaptados al medio, tengan más probabilidades de dejar descendencia en la sucesiva generación, en el proceso de selección natural (Falconer, 1952). *Diferencias en sensibilidad al ambiente entre individuos suponen la existencia de lo que se denomina interacción genotipo-medio (GxE). Es decir, la diferencia en el fenotipo de dos individuos distintos (genotipos) no es la misma en los diferentes ambientes.*

Éste fenómeno puede ser utilizado por los mejoradores en producción animal que estén interesados en seleccionar individuos que presenten menor sensibilidad del carácter o caracteres productivos de interés, a las condiciones ambientales.

Si las diferencias entre individuos cambian de signo entre ambientes, el efecto de GxE supone un reordenamiento de los individuos en los distintos ambientes. Si únicamente cambian en magnitud, se produce únicamente un efecto de escala. Ambas causas de interacción deben tenerse en cuenta al decidir en qué ambiente deben realizarse las valoraciones genéticas de los animales que van a ser utilizados en unas determinadas condiciones ambientales.

En la **Figura 3** se representan cuatro tipos distintos de respuesta fenotípica (P) de 3 individuos a lo largo de una variación ambiental (E). De izquierda a derecha, en las dos primeras representaciones no existe interacción GxE: en la primera, no hay respuesta fenotípica a la variación ambiental, el fenotipo de los individuos se mantiene constante a lo largo de la variación ambiental; en la segunda gráfica, aunque se produce una respuesta a la variación ambiental, las diferencias entre los fenotipos de los individuos se mantienen constantes. En las dos últimas representaciones se produce interacción GxE: en la tercera, la respuesta en expresión fenotípica aumenta en función de las condiciones ambientales, de modo que, se observa una mayor variabilidad en unas condiciones ambientales que en otras, lo que supone un efecto de escala; en la cuarta gráfica las diferencias entre los fenotipos de los individuos llegan a cambiar de signo en función del ambiente, produciéndose un reordenamiento de los individuos por la expresión de sus fenotipos en los distintos ambientes.

Figura 3



El ambiente puede estar descrito por uno o varios factores que afectan al fenotipo del individuo (temperatura, humedad, iluminación) o por una variable que reúna un conjunto de condiciones ambientales que afectan a la expresión de los fenotipos (sistema de manejo, condiciones de inseminación, etc).

3.2. Métodos de análisis de GxE

Para el análisis de GxE es necesario disponer de datos fenotípicos de un mismo individuo o de individuos emparentados en distintas condiciones ambientales.

Existen dos formas o modelos de analizar la GxE: mediante el *Modelo Multicarácter* o mediante el *Modelo de Norma de Reacción*.

3.2.1. Modelo Multicarácter ("Character State Model"; Falconer, 1952)

Las medidas de los fenotipos en los distintos ambientes son considerados caracteres distintos, por lo que los distintos ambientes deben ser considerados como factores discretos.

Una vez estimados los componentes de variación y las correlaciones entre los distintos caracteres, la magnitud y el signo de la correlación genética es indicador de hasta qué punto son los mismos genes los que regulan la expresión fenotípica en los distintos ambientes (o caracteres). Diferente magnitud de las varianzas genéticas y correlaciones genéticas distintas de 1 son indicadoras de la existencia de GxE. En este caso, la sensibilidad al ambiente se mide como la diferencia en los valores fenotípicos entre los diferentes ambientes pudiéndose producir un cambio

en la misma como respuesta correlacionada a la selección por los valores fenotípicos dentro de ambientes (Via y col., 1995).

El modelo multicarácter se ha utilizado frecuentemente (Fikse y col., 2003; Kearney y col., 2004) y es también usado por *The internacional Bull Evaluation Service* (INTERBULL) para la evaluación genética internacional de los machos de vacuno de leche, considerando la producción en cada país como un carácter diferente.

3.2.2. Modelo de Norma de Reacción

Éste modelo es útil cuando el efecto ambiental presenta una gradación continua a lo largo de la cual se expresan los distintos fenotipos de los individuos.

La norma de reacción describe el fenotipo como una función continua de descriptores ambientales (Kolmodin, 2003).

Cada genotipo se expresa como una función polinómica que relaciona su fenotipo a lo largo de la variación ambiental. Por tanto, diferentes individuos pueden responder de manera diferente a lo largo del descriptor ambiental. La sensibilidad al ambiente se define como la primera derivada de la función de norma de reacción, (es la pendiente, cuando la función es lineal). Si hay variación entre individuos en los coeficientes de los polinomios que describen la función, significa que hay existencia de GxE, porque hay variación genética en la sensibilidad al ambiente. Se puede provocar un cambio en la sensibilidad ambiental seleccionando por los distintos coeficientes polinómicos o bien como respuesta correlacionada a la selección por valores fenotípicos en un determinado ambiente (Via y col., 1995).

La variación ambiental define un número infinito de caracteres entre los que existe una estructura de covarianza. Esta estructura de covarianza se describe a través de la función continua y hay varias maneras de estimar los parámetros que la componen:

- Una forma es escoger varios puntos a lo largo del carácter longitudinal y a partir de la matriz y de los valores de la función en los puntos calcular los parámetros que describen la función de covarianzas (Kirkpatrick y Lofsvold, 1989). Si el número de parámetros de la función es igual al número de caracteres definidos inicialmente el cálculo se realiza invirtiendo la matriz de valores de la función en los diferentes puntos. Pero si el número de

parámetros de la función es menor que el número de caracteres que definen la matriz, los parámetros de la función de covarianza se estiman por mínimos cuadrados. Este método presenta el inconveniente que se debe conocer con antelación la matriz de covarianzas entre los caracteres.

- Otro método para estimar los parámetros de la función de covarianza directamente de los datos es mediante **modelos de regresión aleatoria** de los datos de un mismo individuo (o individuos emparentados) sobre un descriptor ambiental. Para ello, se incluye una función de coeficientes dentro de un factor aleatorio (permanente y/o aditivo) y se permite el cambio de los componentes de varianza a lo largo de la variación ambiental. En mejora genética, si existe variación genética en los coeficientes de regresión aleatoria es que existe interacción GxE y se puede modificar mediante selección por dichos coeficientes, la forma de la función de norma de reacción así como la conformación en un determinado ambiente. Los componentes de varianza se estiman generalmente por procedimientos REML. Se han utilizado modelos de regresión aleatoria para analizar la sensibilidad ambiental de caracteres de producción tales como crecimiento, producción de leche, consumo, fertilidad, longevidad, etc (Oseni y col.; Kolmodin y col., 2002; Windig y col., 2006).
- Una alternativa más flexible que las anteriores son los **modelos jerárquicos** (Wakefield y col., 1994) porque permiten estimar funciones de covarianza lineales o no lineales y permiten utilizar cualquier tipo de modelo que defina la partición de la variación individual en sus componentes genético y ambiental. Estos modelos se han utilizado para el análisis de funciones no lineales en las que se considera que el ambiente afecta al carácter cuando se excede un determinado umbral.

Las ventajas del uso de las funciones de covarianza frente al modelo multicarácter es que cuando se tienen muchos datos en distintos puntos del descriptor ambiental, solo es necesario estimar los coeficientes de la función. Por otro lado, con la función de covarianzas el carácter queda descrito a lo largo de todo el descriptor ambiental, aunque no se tengan datos del mismo en todos los puntos. Finalmente, las medidas se pueden utilizar sin necesidad de agruparlas en conjuntos discretos de ambientes (o caracteres), de modo que, al respetarse el orden y distancia entre ellas, las estimas de los componentes de varianza son más precisas.

La mayor parte de estudios de sensibilidad o tolerancia ambiental han sido realizados en vacuno para caracteres productivos (producción de leche, porcentaje de proteína...), reproductivos (fertilidad) y sanitarios (recuento de células somáticas, presencia de parásitos gastrointestinales...) en los que los factores ambientales se definían por los niveles de producción entre rebaños, los regímenes de alimentación y los sistemas de manejo (Kolmodin y col., 2002; Boettcher y Fatehi, 2003; Fikse y col., 2003; Kolmodin y col., 2003; Petersson y col., 2005; Windig y col., 2006; Kearney y col., 2004).

3.3. Interacción del genotipo del macho con las condiciones de IA sobre la fertilidad y la prolificidad en conejo (Véase página siguiente)

Artículo

Running head: Male genotype x AI conditions interaction

Genotype x AI conditions interaction for male effect on fertility and prolificacy in rabbit

Tusell Ll.^{*2}, García-Tomás M.^{*}, Baselga M.[†], Rafel O.^{*}, Ramon J.^{*}, López-Bejar M.[‡], Piles M.^{*}

^{*} Unitat de Cunicultura, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Torre Marimon s/n, 08140, Caldes de Montbui, Barcelona, Spain

[†] Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, 46071, Valencia, Spain

[‡]Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Barcelona, Spain

¹ This research was supported by INIA project RTA2005-00088-CO2. Llibertat Tusell Palomero received a fellowship from the INIA. The authors thank Anna Pérez, Carme Requena, Daniel Mozer Schonborn, Oscar Perucho and Sinela Mozer Schonborn for valuable cooperation during the experimental phase of this study and, Dr. Andrés Legarra, Ignacio Aguilar and Prof. Romdhane Rekaya for their contributions, comments and suggestions.

² Corresponding author: llibertat.tusell@irta.cat

Key words: artificial insemination, (co)variance components, genotype x environment interaction, male fertility and prolificacy, rabbit

ABSTRACT: Failures in fertilization or embryogenesis have been shown to be in part of semen origin. When artificial insemination (**AI**) is practiced, fertilization rate depend on the number and quality of the spermatozoa of the dose of insemination around the application time. Individual variation of male effect on fertility and prolificacy could also depend on these factors and it could be better observed under limited conditions of AI, such as, low sperm concentration, small or null pre-selection of the ejaculates for any semen quality trait, or long storage period of the AI doses. The first aim of this research was to determine if differences in genetic variance for male fertility and prolificacy can be observed after AI using high and low sperm dosage. The interaction between the male genotype with this factor was also estimated. The second aim was to determine if there exist an interaction between male genotype and other factors involved in the AI process as a whole (conditions and duration of the storage period of the dose, genetic type of the female and environmental conditions of the farm). Male success or failure to conception (**F**) and total number of kids born per litter (**TB**) after AI under different conditions were assumed to be different traits, and analyzed in a two sets of independent analyses. In order to determine the effect of sperm concentration on these traits, AI were performed at 10 and 40 x10⁶ spermatozoa /mL leading to 6,613 and 3,379 records for F and TB, respectively. To determine the effect of other conditions, AI was performed using doses that differed in the storage period, extender, and environmental conditions leading to 13,156 and 7,704 records for F and TB, respectively. Threshold and linear two-trait models were assumed for F and TB, respectively. The sperm dosage had a clear effect on F and TB, in favor of the higher dosage (-0.13% and -1.25 kids born, respectively), being TB more sensitive to this reduction than F. Heritabilities for F were 0.09 for both sperm dosage, and 0.08 and 0.06 for TB with low and high sperm dosage, respectively. No genotype x sperm dosage interaction was found. Therefore, selection to improve male F and TB could be done at any sperm concentration. Besides of sperm dosage, other factors involved in the AI process had also an important effect on F but no effect was detected on TB, but in both cases, there was some evidence of an interaction between male genotype and the AI conditions.

3.3.1. INTRODUCTION

The outcome of a mating is the result of the contribution of the male, the female and the environmental factors (Koops et al., 1995). It is well documented the impact of the number and quality of sperm involved on the fertilization process and subsequent embryogenesis (Den Daas et al., 1998; Saacke et al., 2000). However, when fertility and prolificacy are evaluated after natural mating (**NM**) or after artificial insemination (**AI**) in commercial conditions, the observed variation due to the male is very low or almost null: in rabbits after NM, Piles et al. (2005; 2006); in swine after AI, van der Lende et al. (1999) and Varona and Noguera (2001). These conditions are not optimal to detect individual variation among males: the amount of sperm is very high and most of the males exceed the threshold needed to reach fertility (Amann and Hammerstedt, 2002). In AI there is also a strong pre-selection of the ejaculates used. Thus, while differences among males that are independent of sperm dosage are maintained, differences among males which can, at least in part, be overcome by increasing the amount of sperm are not detected (Saacke et al., 2000). The first aim of this research was to determine if differences in genetic variance for male fertility and prolificacy can be observed after AI using high and low sperm dosage. In this case, there would be an interaction between the male genotype and the concentration of the AI dose. Moreover, there could be a re-ranking of the males in the case that the genetic correlations between these traits differ from 1. Another factors involved in the AI process (conditions and duration of the storage period of the dose, genetic type of the female, environmental conditions of the farm) could also lead to an interaction with the male genotype. Thus, the second aim of this study aimed to determine, if it exists, a male genotype x AI conditions interaction.

3.3.2. MATERIAL AND METHODS

Animals and data

The research protocol was approved by the animal care and use committee of the Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA).

Data of male fertility and prolificacy were analyzed from bucks belonging to a population of a sire line selected for growth rate (Caldes line: Gómez et al., 2002). Data came from two different sources: i) an experiment aimed to assess the effect of sperm dosage on male reproductive performance after AI and the interaction of

this effect with the male genotype. In this case doses were prepared after a small pre-selection of the ejaculates for seminal quality traits and stored for 24h until AI was performed on crossbred females from a dam line, reared in a commercial farm, ii) the AI performed with the same population of males in the nucleus of selection on females from the same sire line. In this case AI doses were prepared and used within 30 min after the ejaculate collection, with no selection for semen quality traits. The interest in using this second set of data was to get some additional information about the effect of different AI conditions on male fertility and prolificacy and also the effect of the male genotype x AI conditions interaction, being those conditions related with doses preparation and conservation, genetic type of the female and the environment in the farm where AI was practiced.

Bucks were bred and reared in the nucleus of selection in Caldes de Montbui (Barcelona, Spain). This farm has isolated walls and roof and, equipments to avoid animal's exposition to extreme temperatures. After weaning at 32 d-old, males were housed in collective cages of 8 individuals with a photoperiod of 16 h light/day. Animals were fed with commercial rabbit pellets *ad libitum* (15.5% crude protein, 2.3% fat, 17.2% fiber) until 60 days-old. Then, they were allocated in the farm of the AI centre (which has the same environmental conditions as the nucleus of selection and is placed beside it) and they were subsequently restricted to 180 g/d of another commercial diet (16% crude protein, 4.3% fat, 17% fiber). Fresh water was always available.

All males started the training to artificial vagina at 4.5 mo-old. A homemade PVC artificial vagina, containing water at a temperature of 50 °C, was used and one ejaculate was collected per male and per week during the first two weeks. After this period, two ejaculates per male and per week were collected, with an interval of 30 min between both collections.

Preparation of the AI doses used in the experiment

Ejaculates were stored, for no more than 15 min after collection, in a dry bath at 35 °C until their evaluation for seminal traits. Ejaculates containing urine and calcium carbonate deposits were discarded, and gel plugs were removed. Individual motility of the ejaculate was measured in aliquots (25µl) under a microscope with a phase-contrast optic (Nikon, Lewisville, TX) at x400 according to a subjective scale from 0 to 5 (Roca et al., 2000). A small pre-selection of ejaculates was performed, discarding only those with individual motility lower than 2. After evaluation,

ejaculates from each buck were pooled and diluted (1:1) in a commercial saline extender for rabbit semen (Cunigel, www.imv-technologies.com) and the cell sperm concentration was measured by using a counter of sperm cells (NucleoCounter SP-100, www.chemometec.com). The pool from each buck was divided in two parts and diluted until 10×10^6 spermatozoa/mL and 40×10^6 spermatozoa/mL to obtain **type 10 doses** and **type 40 doses**, respectively. These concentrations were chosen as a compromise between: i) the number of data per male and day necessary to separate the male effect from other random factors and to maximize the accuracy of the estimates, ii) the difference in sperm concentration necessary to distinguish between the effect of seminal characteristics that can and cannot be compensated with a high number of spermatozoa of the AI dose.

AI doses were stored in straws of 0.5mL at 18 °C for 24 h until its use.

Preparation of AI doses used in the nucleus of selection of the sire line

Only ejaculates containing urine and calcium carbonate deposits were discarded, and gel plugs were removed. No evaluation of seminal characteristics was performed. Ejaculates were diluted 1:4 in a commercial liquid extender (Galap, www.imv-technologies.com) immediately after collection to obtain the **type X doses** with unknown sperm concentration. AI doses of 0.5 mL were applied within 1 h after preparation.

Artificial inseminations

The experiment was performed from June 2006 until October 2007. Type 10 and type 40 doses from each buck were applied over 2,293 crossbreed does (Prat x V), coming from the cross between animals from two maternal lines selected for litter size at weaning (V line: Estany et al., 1989; Prat line: Gómez et al., 1996). Females were reared in a commercial farm placed in Montmajor (Barcelona, Spain). This farm has also isolated walls and roof and systems to avoid extreme temperatures. Females had water and food *ad libitum* and were raised under a photoperiod of 16 h light per day.

Data from the nucleus of selection of the sire line corresponded to the period from June 2003 to February 2008. Type X doses were applied over 2,601 females from the same sire line, reared in the nucleus of selection described above. After weaning at 32 d-old, the young females were housed with the young males in collective cages until they were 60 d-old. Then, they were allocated in individual

cages and subsequently restricted to 180 g/d of another commercial diet (16% crude protein, 4.3% fat, 17% fiber). Fresh water was always available.

Both groups of females, Caldes and PratzV, followed a semi-intensive reproductive rhythm: first AI at about 4.5 mo-old, with subsequent 42 d reproductive cycles. Two weeks before first parity, does were allocated in maternal cages and fed *ad libitum* with the same commercial pellets.

All females were treated with subcutaneous application of eCG 12-15 UI (Foligon, Intervet International B.V., Booxmeer, Holland) for estrous induction 48 h before AI. The ovulation was immediately induced after AI by an intramuscular injection of 0.02 mg of Gonadorelina (Fertagyl, Intervet internacional B.V. Booxmeer, Holland).

Diagnosis of pregnancy was made by palpation, 14 d after AI. The assigned fertility (**F**) score was 1 when the female was diagnosed as pregnant and 0 when it was not. These data were confirmed with the information about the day of parturition. Therefore, errors in diagnosis of gestation were only possible in the case of females that died before the date of parturition, which represent less than 1% of the data. Prolificacy was defined as the total number of kits born per litter (**TB**). This trait was recorded at kindling.

Table 1 shows summary statistics for male fertility **F_i**, and prolificacy **TB_i**, for $i=10, 40$ and X , corresponding to AI made with type 10 doses, type 40 doses and type X doses, respectively.

All the males were genetically related and the pedigree included 1,437 individuals.

Models and Statistical Analysis

Fertility and prolificacy traits were analyzed independently and for each of these traits two analyses were performed using the two sets of data.

First, the outcomes obtained with the types of doses 10 and 40 were considered as two different traits: **F₁₀** and **F₄₀** for fertility and **TB₁₀** and **TB₄₀** for prolificacy. They were analyzed in two sets of two-trait models in order to determine the effect of concentration of the AI dose on these traits and also the interaction male genotype x dose concentration.

In a second step, the outcomes obtained with type 10 and type 40 doses were treated as an unique trait (F_{1040} and TB_{1040} for fertility and prolificacy, respectively) and they were analyzed with the outcomes produced after AI with type X doses (F_x and, TB_x) in a two-trait model, in order to assess the effect of the genotype x AI conditions interaction (condition and duration of the storage period of the dose, genetic type of the female and environmental conditions of the farm).

We assumed a threshold model for fertility. This model postulates that the observed response is related to an underlying normal variable I (liability) and to a fixed threshold that divides the continuous scale into two intervals that delimit the two response categories (Wright, 1934). Procedures developed by Sorensen et al. (1995), based on Markov Chain Monte Carlo methods allow the analysis of categorical traits using this model. In matrix notation, the model assumed for both groups of analysis was the following:

$$y = X\beta + Z_1u_m + Z_2p_m + Z_3p_f + Z_4p_{md} + e$$

Being y the liability (I) or the number of total kids born; β is the vector of systematic effects; u_m is the vector of male genetic additive effects; p_m is the vector of the male non additive genetic plus permanent environmental effects; p_f is the vector of the female genetic plus permanent environmental effects; p_{md} is the vector of the environmental permanent effects resulting from the combination between male and day of AI, and e is the residual. X and Z_i ($i=1, \dots, 4$) are incidence matrices relating the variable y with the systematic, genetic and environmental permanent effects described above. Definition and number of levels of systematic effects for fertility and total number of kids born included in the different models are shown in Table 2.

A non-presented simulation study for fertility data confirms the ability of the statistical procedure to recover the simulated parameters with the same data structure and pedigree as the real data.

Analysis of fertility

Given β , u_m , p_m , p_f , p_{md} , the elements of the vector I are conditionally independent and distributed as follows:

$$I | \beta, u_m, p_m, p_f, p_{md} \sim N(X\beta + Z_1u_m + Z_2p_m + Z_3p_f + Z_4p_{md}, I)$$

Being \mathbf{I} the identity matrix. The thresholds and the residual variances were fixed to 0 and 1, respectively, and the covariance between residuals, no matter the trait of the record, is always null because the observations come from different times and does. Observations (failure or success to conception) are conditionally independents given the parameters of the model. Thus, the conditional distribution of data given the parameters can be written as follows (Sorensen et al., 1995):

$$p(\mathbf{y} | \boldsymbol{\beta}, \mathbf{u}_m, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_f, \mathbf{P}_{md}, \mathbf{I}, \mathbf{G}) = \prod_{i=1}^n \{p(l_i > 0)I(y_i = 1) + p(l_i \leq 0)I(y_i = 0)\}$$

Where $\mathbf{y} = \{y_i\}$ ($i=1,2,\dots,n$) denotes the vector of observations and $I(y_i = j)$ is an indicator function that takes the value of 1 if the response belongs to the j category and 0 if not. \mathbf{G} is the additive genetic (co)variance matrix.

A Bayesian methodology was adopted for inference. The joint posterior distribution of all parameters was:

$$p(\boldsymbol{\beta}, \mathbf{u}_m, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_f, \mathbf{P}_{md}, \mathbf{I}, \mathbf{G}, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_f, \mathbf{P}_{md} | \mathbf{y}) \propto \\ p(\mathbf{I} | \boldsymbol{\beta}, \mathbf{u}_m, \mathbf{P}_m, \mathbf{P}_f, \mathbf{P}_{md}) \times p(\mathbf{u}_m | \mathbf{G}) \times p(\mathbf{G}) \times p(\mathbf{P}_m | \mathbf{P}_m) \times p(\mathbf{P}_m) \times p(\mathbf{P}_f | \mathbf{P}_f) \times p(\mathbf{P}_f) \times \\ \times p(\mathbf{P}_{md} | \mathbf{P}_{md}) \times p(\mathbf{P}_{md}) \times p \prod_{i=1}^n \{p(l_i > 0)I(y_i = 1) + p(l_i \leq 0)I(y_i = 0)\}$$

Where, \mathbf{P}_m is the (co)variance matrix of male non-additive genetic plus permanent environmental effects, \mathbf{P}_f is the (co)variance matrix of female genetic plus permanent environmental effects, and \mathbf{P}_{md} is the (co)variance matrix of permanent environmental effects resulting from the combination between male and day of AI.

Table 3 shows the structure of matrices used in the analysis. In the analyses of traits after AI with different sperm dosage it was considered that there was a correlation between both traits for all permanent effects, whereas in the analysis of traits after AI under different conditions all the random effects were considered uncorrelated, except the male additive effect, since different groups of males from the same population were used and females were of different genetic type.

The prior distributions for the parameters of the model were:

$$p(\boldsymbol{\beta}) \sim k; \quad p(\mathbf{u}_m | \mathbf{G}) \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{A} \otimes \mathbf{G}); \quad p(\mathbf{P}_m | \mathbf{P}_m) \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I} \otimes \mathbf{P}_m); \\ p(\mathbf{P}_f | \mathbf{P}_f) \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I} \otimes \mathbf{P}_f); \quad p(\mathbf{P}_{md} | \mathbf{P}_{md}) \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I} \otimes \mathbf{P}_{md})$$

Where, \mathbf{A} is the numerator relationship matrix. Bounded uniform priors were assumed for the systematic effects and for \mathbf{G} , \mathbf{P}_m , \mathbf{P}_f , and \mathbf{P}_{md} to convey the lack of information relating to these parameters.

Analysis of prolificacy

Total number of kids born per litter was considered to be a continuous trait and analyzed using the same models as the ones used for the liability. The same assumptions for the structure of (co)variance of all random effects were made (Table 3), except for the residual (co)variance matrix, which was in this case a diagonal matrix with not fixed values. The number of levels of systematic effects included in the model for each trait is also shown in Table 2.

Prior distributions for systematic and random effects and (co)variance components were the same as for fertility with different bounds. The prior distribution for the residuals was $p(\mathbf{e} | \mathbf{R}) \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{R})$ and, bounded uniform priors were also assumed for the elements of \mathbf{R} .

The Gibbs sampler

The marginal posterior distributions of the variables of interest were approximated using the Gibbs sampler algorithm. Conditional distributions of the model parameters, which are necessary for its implementation, can be found in Sorensen and Gianola (2002). Single chains of 500,000 iterations were run for all the analysis. The first 50,000 iterations of each chain were discarded, and samples of the parameters of interest were saved for each of 25 iterations. The number of rejected samples was in all cases much bigger than the burn-in determined using Raftery and Lewis (1992) and Geweke (1992) procedures. The sampling variance of the chains was obtained by computing Monte Carlo standard errors (Geyer, 1992).

The variance of the GxE interaction

Genotype by environment interaction (\mathbf{GxE}) appears when there are differences in environmental sensitivity between individuals. Treating the observations under different environments/conditions as different traits, the genetic correlation (r_g) measures the possible existence of GxE due to a re-ranking of the genotypes by the expression of their phenotypes across the environments, while the difference in

magnitude of the genetic variances ($\sigma_{G_i}^2$, standing i to determine the environment) measures the possible existence of GxE due to a scale effect (Kolmodin, 2003).

The posterior distributions of the interaction variance ($\sigma_{G \times E}^2$) for fertility and prolificacy were estimated from the samples of genetic variances and covariances according to the following formula (Mathur, 2002):

$$\sigma_{G \times E}^2 = \frac{1}{2}(\sigma_{G_1} - \sigma_{G_2})^2 + \sigma_{G_1} \sigma_{G_2} (1 - r_g)$$

3.3.3. RESULTS AND DISCUSSION

3.3.3.1. Effect of the concentration of the AI dose and interaction with male genotype

Fertility

The means (s.d.) of the estimated marginal posterior distribution (**EMPD**) for F₁₀ and F₄₀ were 0.42 (0.04) and 0.55 (0.04), respectively. This result indicates a clear effect of the sperm dosage on fertility shown in Figure 4 (about 31% of the mean of the EMPD for F₁₀) which corresponds with the effect of seminal characteristics that can be compensated by increasing this factor (viability, motility, morphology and other unknown functional and molecular traits; Saacke et al., 2000). In a previous study, the sperm concentration of the ejaculate (which is the maximum value for dose concentration) in this line was estimated to be 252 x10⁶ spermatozoa/mL (Garcia-Tomas et al., 2006) and the fertility rate after natural mating (**NM**) with purebred females of the same line was 80.5% (Piles et al., 2005). Therefore, a change in the sperm dosage from 10 x10⁶ spermatozoa/mL to 40 x10⁶ spermatozoa/mL, given the conditions of the present experiment, seems to be not high enough to compensate deficiencies in sperm characteristics precluding sperm access to the ovum or the ability to engage the ovum sufficiently to initiate fertilization and to block polyspermy, when homospermic doses are used. In addition, a higher dilution of the ejaculate implies a higher dilution of the seminal plasma which has been shown to have a role in promoting fertility, being the vehicle for the spermatozoa, stimulating the motility and protecting the membrane integrity and functionality (Maxwell and Johnson, 1999).

The effect of sperm dosage could be non linear and moreover, there could be an effect of other factors related to the AI process (different from the semen characteristics), which could explain differences in fertility rate after AI with high sperm dosage and the same ratio after NM. Individual differences in factors with an effect that cannot be compensated with a high number of spermatozoa (traits affecting embryo quality such as defective chromatin; Saacke et al., 2000), would explain the small variation due to the male in fertility after NM.

The EMPD corresponding to the ratios between variance components for F_{10} and F_{40} are summarized in Table 4. Although they are inaccurate, heritabilities are equal for F_{10} and F_{40} and both of them could be higher than the corresponding value after NM (0.013; Piles et al. 2005), being the probability of a value higher than 0.02 equal to 91% and 97% for F_{10} and F_{40} , respectively. This suggests that genetic variance after NM could be due mainly to individual genetic variation in semen characteristics with an effect that cannot be compensated with high sperm dosage, since it is associated with the sperm unable to maintain the fertilization process or subsequent embryogenesis once initiated, whereas genetic variance after AI would be due to any kind of semen characteristics. Variance components also showed that the importance of the genotype x sperm dosage interaction was almost negligible (mean of the variance of the interaction, only 8.1% of the mean of the additive variances). This is because the genetic variance was the same for both traits and their genetic correlation was almost 1 (Table 6). It means that, probably, the same genes are affecting F_{10} and F_{40} and, thus, the responses to selection for increasing male fertility that could be obtained after AI -within this range of sperm dosage- would be the same, and also that the proportion of response selecting for one trait, that could be expected for the other trait -as a correlated response- would be high. Thus, within the range of sperm dosage studied, selection to improve male fertility after AI could be performed at any sperm dosage, and could have a higher response to selection than selection for male fertility after NM. On the other hand, although there is an effect of sperm dosage on male fertility, there is negligible individual genetic variation of this effect and therefore, probably, there is no individual genetic variation on the effect of semen characteristics (as a whole) that can be compensated increasing the sperm dosage on fertility after AI. Thus, if the objective is to improve male fertility with non limiting sperm dosage through indirect selection for semen quality traits, the selection criteria should be non compensable traits, but if the objective is to optimize the use of the ejaculates to

obtain a higher number of doses of AI, the selection criteria should be compensable semen characteristics or both.

No differences were found in the ratios of phenotypic variance due to the permanent effects between F_{10} and F_{40} . The most important effect for both traits was the environmental effect resulting from the combination between male and day of AI. This, fact demonstrate the high sensitiveness of male fertility to environmental conditions during ejaculate collection and doses preparation and conservation. The correlation between both traits for every permanent effect was high: 0.89 for p_f , 0.85 for p_m and 0.85 for p_{md} .

Prolificacy

The mean (s.d.) of the EMPD for TB_{10} and TB_{40} were 7.25 (0.3) and 8.50 (0.2), respectively. It supposes an increase of 17.2 % in TB over the mean of the EMPD for TB_{10} . Thus, it seems that the effect of sperm dosage is also expressed at the level of the number of fertilized ova and developed embryos (Figure 4). Nadir et al. (1993) suggested that by increasing the number of spermatozoa at the site of fertilization there is also an increase in the competition between them to fertilize the ovum, resulting in a higher probability for the ovum to be fertilized by normal spermatozoa and ensuring not only the fertilization rate but also the normal subsequent embryonic development.

The EMPD of ratios between variance components for TB_{10} and TB_{40} are summarized in Table 4. They are not very accurate but it seems that heritability of male litter size after AI is higher than the corresponding value estimated by Piles et al. (2006) for litter size after NM in three maternal lines of rabbits, where the ratio of phenotypic variation due to the male ranged from 0.001 to 0.003. Also in swine, a very small effect of sire has been found for several authors (See et al., 1993; van der Lende et al., 1999; Hamann et al., 2004). The additive variances for TB_{10} and TB_{40} were no significantly different, the genetic correlation between both traits was near to 1 (Table 6), and the genotype x sperm dosage interaction was almost negligible (1.1% of the phenotypic variance). The mean of the ratio of the variance due to the interaction with respect to the average of the means of the EMPD for additive variances equals to 0.17 and the mode <0.02 so there was not relevant individual genetic variation on the effect of sperm dosage on the total number of

kids born. From the estimates of genetic parameters, the conclusions about selection for improving male TB would be the same as described above for male F.

No differences were found in the ratios of phenotypic variance of the permanent effects between TB₁₀ and TB₄₀. The permanent environmental effect resulting from the combination between male and day of AI was also the most important effect for both traits. The correlations between traits for p_f and p_m were 0.75 and 0.72, respectively, but surprisingly it was null for p_{md} .

Comparison between the effect of sperm dosage in fertility and prolificacy

Prolificacy was a 10% more sensitive to the reduction to sperm concentration of the AI dose than fertility (Figure 5). This could be explained because more sperm is needed to obtain a high number of kids, whereas only one capable spermatozoid could be enough to reach success in fertility. Using homospermic AI doses in rabbits, Brun et al. (2002) conclude that kindling rate seemed to depend mainly on sperm quality and on the cumulative effect of other factors (concentration, motility and volume), while prolificacy seemed to be more dependent on quantitative traits such as concentration. In porcine, Alm et al. (2006) found that even they detected a remarkable reduction in farrowing rate when reducing the concentration of the AI dose, litter size was the most sensitive indicator, because it was the only trait remaining significant after excluding the poorest boars by sperm morphology from the data. Xu et al. (1998) found no reduction in farrowing rate when reducing the sperm concentration of the boar dose, but they found a reduction in litter size.

Environmental permanent effects related to the male are important for fertility after AI but the magnitude of these effects is almost negligible for prolificacy under the same conditions. This fact shows that factors related to the male are important in the success or failure to conception, but once conception is reached, male influence in the number of embryos developed until born is almost null, being prolificacy more dependent on female performance because it exerts a long-term effect on the formation of viable offspring. In the same manner, environmental effects related with dose preparation and conservation were also more important for fertility than for prolificacy.

3.3.3.2. Effect of the AI conditions and its interaction with male genotype

From the previous results, it was established that the outcomes from AI with different sperm concentration of the doses could be considered to be the same

trait. The following analysis aimed to answer the question of whether there could be any interaction between the male genotype and other factors involved in the AI process, as a whole, such as the time and storage conditions of the AI doses, the female genotype or the environment. The analysis was performed for F and TB separately. A two-trait model was used to analyze the result of AI: i) under the conditions of the former experiment (F_{1040} and TB_{1040} for fertility and prolificacy, respectively) and, ii) under the environmental conditions of the nucleus of selection of the sire line, with purebred females from this line, using a different extender and without any storage period of the doses before AI (F_x and TB_x for fertility and prolificacy, respectively). Details have been described in "material and methods" section.

Fertility

The mean (s.d.) of the EMPD for F_{1040} and F_x were 0.49 (0.03) and 0.75 (0.02), respectively. The magnitude of the difference between them (Figure 6) supposed an increase of 51.0 % over the mean of the EMPD for F_{1040} . Considering the sperm concentration of the ejaculates in this line and that semen was diluted 1:4 with the extender, it results an average concentration around 50×10^6 spermatozoa/mL for type X doses. The high difference in F between both types of AI could be due in part to the effect of sperm concentration in the AI dose. However, considering that 45% of the type 1040 doses had a sperm concentration similar than the average concentration of type X doses and the magnitude of the difference between both traits, it seems that there are some other factors affecting this trait which could be more important than concentration of the AI dose.

Considering the effect of the genetic type of the female, the difference found here between fertility after AI under different conditions, would be expected to be higher if the same type of female was used. Thus, Baselga et al. (2002) founded a negative heterosis effect between two maternal lines of rabbit for kidding interval after NM which means that, on average, crossbred females presented better fertility than the purebred females. In addition, the difference that would be expected between crossbred females from two dam lines and purebred females from a sire line would be probably higher, but no information was found in the literature

concerning the lines involved in our results. The environmental conditions were similar in the two farms since they are located in the same climatic region and the management of the animals was similar. Then, probably the more important effect that is explaining this difference in F between the two AI conditions would be the conditions and duration of the conservation of the doses.

As long as the time of conservation of the AI doses increases, there is an increase in the oxidative processes derived by the metabolism activity of the spermatozoa which results in a decrease in the fertilizing ability of the AI dose (Vishwanath and Shannon, 1997; Castellini et al., 2000). In rabbits, it has been denoted for several authors that time and storage conditions causes a decrease on sperm quality (Rosato et al., 2006) and also on fertility and prolificacy (López et al., 1996; Roca et al., 2000).

The EMPD corresponding to the ratios between variance components for F_{1040} and F_x are summarized in Table 5. The estimates of genetic parameters are very inaccurate, but there is some evidence of male genotype x AI conditions interaction: there could be an scale effect since the probability of the ratio between male additive variance for F_{1040} with the corresponding values for F_x of being higher than 1.25 was 83%, and the genetic correlation between both traits could differ from one, since the probability of being lower than 0.75 was 90%. The existence of this interaction would indicate that there could be differences between males due, in part, to differences in the capacity to maintain seminal characteristics of the AI doses after a storage period under certain conditions. Thus, it could be interesting to improve doses conservation in the AI centers by genetic selection of the sire line, leading to a more efficient use of the bucks.

On the other hand, the existence of this interaction implies that the conditions that gives the maximum genetic progress could be chosen in order to optimize the breeding program for male fertility for a given conditions of semen utilization. This can be achieved by expressing the genetic progress in some conditions as a correlated response to selection in another conditions and comparing the genetic progress from selecting in different conditions (Kolmodin, 2003).

Male permanent environmental effects were much higher for F_{1040} than for F_x . The ratio of this variance component with respect to the total phenotypic variance was around 3 times bigger for the first trait and the probability of a positive value for

the difference between the corresponding variances for both traits was 97%. Similarly, the magnitude of the environmental effects resulting from the combination of male and day of AI was higher for F_{1040} than for F_X (the probability of a positive value for the difference between the corresponding variances for both traits was 100%). This factor encompasses all the environmental variation that has in common all the doses of one male in a specific day, which is more important as longer is the time elapsed between dose preparation and application. It includes the variation of the seminal characteristics between different ejaculates from the same male and the variation originated by all the handling processes in the AI centre during the preparation and conservation of the AI doses until the insemination time. Farrell et al. (1993) indicated in their study the need of a rapid and careful handling of sperm in order to not compromise the fertilizing ability of the rabbit AI doses. They also indicate that variation due to the manipulation of the sperm to prepare, store and to apply the AI is one of the most critical factors that really difficult the prediction ability of the semen quality tests to assess male reproductive performance. In the Caldes line, García-Tomás et al. (2006) observed very high coefficients of variation for several semen quality traits.

Prolificacy

In the case of total number of kids born, there was no effect of the AI conditions considered here (Figure 6), but is necessary to consider the association between the types of females and types of AI conditions. As commented above for fertility, the expected prolificacy for the pure Caldes does is lower than the one expected for the crossbred Prat xV and this fact could compensate an eventual superiority of the AI conditions over the TB_{1040} if the female effect was corrected.

Table 5 shows the EMPD corresponding to the ratios between variance components for TB_{1040} and TB_X . Permanent male effects were higher after AI (for both traits, TB_{1040} and TB_X) than the corresponding values obtained for litter size after NM (Piles et al., 2006).

The permanent effect due to the female was almost 4 times smaller for crossbred does than for purebred does.

There could be a genotype x AI conditions interaction. The ratio of the variance of the interaction with respect to the average of the means of the EMPD for additive

variances was 1.30 (Table 6). This is due to the difference between the male additive variance for TB_{1040} and the same variance component for TB_x (the probability of the ratio between them being higher than 1.25 was equal to 87%) and, also due to the genetic correlation that could be different from 1 (the probability of the genetic correlation between both traits being lower than 0.75 was 100%). Here, the same conclusions as the formulated above with respect to selection for male fertility could be done for male prolificacy.

Comparison between the effect of AI conditions in fertility and prolificacy

Environmental effects related with the male and the handling during the preparation and storage of the AI doses were more important for fertility than for total number of kids born. As it was mentioned before, the differences found in fertility and prolificacy that could be expected if the same type of female was used would be probably larger. Thus, the female could be compensating the effect of time and conditions during the storage period of the AI doses. In the case of prolificacy, due to the fact that the last effects should be similar to the female effect, no difference was observed between the different AI conditions (which include the female, environment and dose preparation and conservation) as it can be seen in Figure 7. However, in the case of fertility the female effect was not enough to compensate the other more important differences between the AI conditions.

In both traits there could be a male genotype x AI conditions interaction, being probably an effect of different sensitivity of semen to duration and conditions of conservation.

3.3.4. IMPLICATIONS

It exist a clear effect of sperm concentration on male fertility and prolificacy, however the individual genetic variation of this effect is almost null. Therefore, within the range of sperm dosage used in this study, selection to improve male fertility and prolificacy after AI with stored doses could be done at any seminal concentration. Under these conditions, response to selection could be higher than expected response after NM or AI with fresh doses, since male additive variance for both traits is higher.

On the other hand, other conditions of the AI process, such as the time and storage conditions of the AI doses, the female genotype or the environment, could have a

more important effect on fertility and prolificacy. Moreover, it could exist and interaction between the male genotype and those conditions, indicating, in part, differences between males in the ability to maintain their seminal characteristics after storage resulting also in differences in their fertilizing potential. Thus, it could be possible to change sperm conservation sensitivity with genetic selection. The existence of this interaction also implies that the conditions that gives the maximum genetic progress could be chosen in order to optimize the breeding program for male fertility and prolificacy for a given conditions of semen utilization

Table 1. Summary statistics for fertility (F_i) and number of total born (TB_i) data across the three different types of AI doses ($i=10^1, 40^2, X^3$).

Fertility data			
	F_{10}	F_{40}	F_X
Fertility (%)	46.4	58.7	71.7
No. of males	248	232	300
No. of females	1,777	1,660	2,601
Mean of No. of records per male	14.6	12.9	21.8
Mean of No. of records per female	2.0	1.8	2.5
No. of data	3,617	2,996	6,543
Prolificacy data			
	TB_{10}	TB_{40}	TB_X
Mean of No. of total kids born	8.2	8.7	8.0
No. of males	202	206	290
No. of females	1,129	1,159	1,786
Mean of No. of records per male	8.2	8.4	14.9
Mean of No. of records per female	1.5	1.5	2.4
No. of data	1,647	1,732	4,325

¹10 = AI with 24 h stored doses with 10×10^6 spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

²40 = AI with 24 h stored doses with 40×10^6 spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

³X = AI with fresh doses with unknown sperm concentration applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection

Table 2. Definition and number of levels of fixed effects for fertility (F_i) and total number of kids born (TB_i) at different AI conditions ($i=10^1, 40^2, 1040^3, X^4$).

Systematic effect	Description	No. of levels across the traits							
		F_{10}	F_{40}	F_{1040}	F_X	TB_{10}	TB_{40}	TB_{1040}	TB_X
Physiological status of the female	nulliparous, multiparous in lactation and multiparous does not in lactation at AI	3	3	3	3	3	3	3	3
Day of insemination and technician	14 d intervals from November 2,006 to July 2,007	19	19	19	-	19	19	19	-
Day of insemination	3 mo intervals from June 2,003 to December 2,007	-	-	-	22	-	-	-	22
Buck age and building	5 mo of age until 9 mo, two buildings	9	9	9	-	9	9	9	-
Buck age	4.5 mo until 32 mo old	-	-	-	9	-	-	-	9
Concentration of AI dose	10 and 40 x10 ⁶ spermatozoa/mL	-	-	2	-	-	-	2	-

¹10 = AI with 24 h stored doses with 10 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

²40 = AI with 24 h stored doses with 40 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

³1040 = 10 and 40 considered to be the same trait.

⁴X = AI with fresh doses with unknown sperm concentration applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection.

Table 3. Structure of the (co)variance matrices assumed for fertility and total number of kids born in the two groups of analysis.

(co)variance matrices for the First group of analysis ¹	(co)variance matrices for the second group of analysis ²
$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} \sigma_{u_{10}}^2 & \sigma_{u_{10},u_{40}} \\ \sigma_{u_{40},u_{10}} & \sigma_{u_{40}}^2 \end{pmatrix};$	$\mathbf{G} = \begin{pmatrix} \sigma_{u_{1040}}^2 & \sigma_{u_{1040},u_X} \\ \sigma_{u_X,u_{1040}} & \sigma_{u_X}^2 \end{pmatrix};$
$\mathbf{P}_m = \begin{pmatrix} \sigma_{pm_{10}}^2 & \sigma_{pm_{10},pm_{40}} \\ \sigma_{pm_{40},pm_{10}} & \sigma_{pm_{40}}^2 \end{pmatrix};$	$\mathbf{P}_m = \begin{pmatrix} \sigma_{pm_{1040}}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{pm_X}^2 \end{pmatrix};$
$\mathbf{P}_f = \begin{pmatrix} \sigma_{pf_{10}}^2 & \sigma_{pf_{10},pf_{40}} \\ \sigma_{pf_{40},pf_{10}} & \sigma_{pf_{40}}^2 \end{pmatrix};$	$\mathbf{P}_f = \begin{pmatrix} \sigma_{pf_{1040}}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{pf_X}^2 \end{pmatrix};$
$\mathbf{P}_{md} = \begin{pmatrix} \sigma_{pmd_{10}}^2 & \sigma_{pmd_{10},pmd_{40}} \\ \sigma_{pmd_{40},pmd_{10}} & \sigma_{pmd_{40}}^2 \end{pmatrix}$	$\mathbf{P}_{md} = \begin{pmatrix} \sigma_{pmd_{1040}}^2 & 0 \\ 0 & \sigma_{pmd_X}^2 \end{pmatrix}$

¹First group of analysis = Fertility and prolificacy after AI with different sperm dosage considered as different traits: 10 and 40 x10⁶ spermatozoa per mL.

²Second group of analysis = Fertility and prolificacy after AI with different AI conditions considered as different traits: with stored doses in a commercial farm over crossbred does from two maternal lines; with fresh doses in a nucleus of selection of a sire line over purebred does.

Table 4. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distributions of phenotypic variance (σ^2), heritability (h^2) and ratios of variation due to: the male non additive genetic plus environmental permanent effects (p_m), the female effects (p_f) and the environmental permanent effects of male and day of AI (p_{md}) for fertility (F_i) and total number of kids born (TB $_i$) with different AI conditions ($i=10^1, 40^2$).

Parameter	F10				TB10			
	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶
h^2	0.092	0.001 , 0.194	0.005	-1.466	0.079	0.000 , 0.149	0.003	0.596
p_m	0.148	0.021 , 0.268	0.004	1.351	0.044	0.000 , 0.106	0.002	0.391
p_f	0.083	0.041 , 0.130	0.001	-1.856	0.061	0.005 , 0.112	0.002	-1.172
p_{md}	0.276	0.192 , 0.361	0.001	-0.282	0.106	0.047 , 0.168	0.001	-1.205
σ^2	2.521	2.118 , 2.906	0.007	-2.605	9.941	9.080 , 10.839	0.0126	0.410
Parameter	F ₄₀				TB ₄₀			
	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶
h^2	0.091	0.013 , 0.184	0.003	0.982	0.057	0.007 , 0.109	0.002	-1.296
p_m	0.108	0.017 , 0.198	0.003	0.054	0.044	0.002 , 0.093	0.001	0.790
p_f	0.048	0.013 , 0.090	0.001	1.642	0.050	0.010 , 0.094	0.001	2.236
p_{md}	0.287	0.202 , 0.374	0.001	-1.579	0.084	0.033 , 0.135	0.001	0.187
σ^2	2.169	1.860 , 2.478	0.006	2.138	8.059	7.412 , 8.746	0.009	-0.734

¹10 = AI with 24 h stored doses with 10 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two dam lines in a commercial farm.

²40 = AI with 24 h stored doses with 40 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two dam lines in a commercial farm.

³PM = Posterior mean.

⁴HPD95% = Highest posterior density interval at 95%.

⁵MCse = Monte Carlo standard error.

⁶Z = Z-Score of Geweke test.

Table 5. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distributions of phenotypic variance (σ^2), heritability (h^2) and ratios of variation due to: the male non additive genetic plus environmental permanent effects (p_m), the female effects (p_f) and the environmental permanent effects of male and day of AI (p_{md}) for fertility (F_i) and total number of kids born (TB $_i$) with different AI conditions ($i=1040^1, X^2$).

Parameter	F1040				TB1040			
	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶
h^2	0.068	0.003 , 0.153	0.003	-1.030	0.064	0.006 , 0.118	0.002	-0.868
p_m	0.130	0.025 , 0.228	0.002	0.517	0.033	0.000 , 0.082	0.001	0.909
p_f	0.054	0.025 , 0.085	0.000	1.299	0.045	0.007 , 0.081	0.001	-0.578
p_{md}	0.264	0.195 , 0.335	0.001	1.091	0.056	0.019 , 0.095	0.000	0.460
σ^2	2.077	1.847 , 2.304	0.002	-0.001	8.773	8.239 , 9.310	0.004	0.055
Parameter	F _X				TB _X			
	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶	PM ³	HPD95% ⁴	MCse ⁵	Z ⁶
h^2	0.026	0.003 , 0.054	0.001	1.189	0.017	0.002 , 0.033	0.001	-0.389
p_m	0.041	0.010 , 0.072	0.000	-1.608	0.020	0.004 , 0.037	0.000	0.985
p_f	0.131	0.081 , 0.183	0.000	-1.006	0.181	0.147 , 0.215	0.000	0.976
p_{md}	0.123	0.087 , 0.162	0.000	1.444	0.024	0.005 , 0.045	0.000	-1.198
σ^2	1.482	1.352 , 1.616	0.001	-0.199	8.272	7.892 , 8.640	0.002	-0.136

¹1040 = AI with 24 h stored doses applied on maternal crossbred females in a commercial farm.

²X = AI with fresh doses with unknown sperm concentration applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection.

³PM = Posterior mean.

⁴HPD95% = Highest posterior density interval at 95%.

⁵MCse = Monte Carlo standard error.

⁶Z = Z-Score of Geweke test.

Table 6. Convergence diagnostic and summary statistics of the marginal posterior distribution of genetic correlation (rg) and variance of the genotype per type of AI dose interaction σ_{GXE}^2 for fertility (F_i) and total number of kids born (TB_i) at different AI conditions (*i*=10¹, 40², 1040³, X⁴).

Parameter	Traits	PM ⁵	HPD95% ⁶	MCse ⁷	Z ⁸
Rg	F ₁₀ , F ₄₀	0.851	0.475 , 1.000	0.017	-0.573
	F ₁₀₄₀ , F _X	-0.038	-0.999 , 0.891	0.027	0.952
	TB ₁₀ , TB ₄₀	0.865	0.499 , 1.000	0.027	-0.905
	TB ₁₀₄₀ , TB _X	-0.404	-0.999 , 0.541	0.045	-4.758
σ_{GXE}^2	F ₁₀ , F ₄₀	0.035	0.000 , 0.093	0.002	0.206
	F ₁₀₄₀ , F _X	0.094	0.000 , 0.214	0.003	-1.222
	TB ₁₀ , TB ₄₀	0.103	0.001 , 0.293	0.009	2.922
	TB ₁₀₄₀ , TB _X	0.459	0.049 , 0.870	0.013	1.753

¹10 = AI with 24 h stored doses with 10 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

²40 = AI with 24 h stored doses with 40 x10⁶spermatozoa/mL applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

³1040 =10 and 40 considered to be the same trait.

⁴X = AI with fresh doses with unknown sperm concentration applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection.

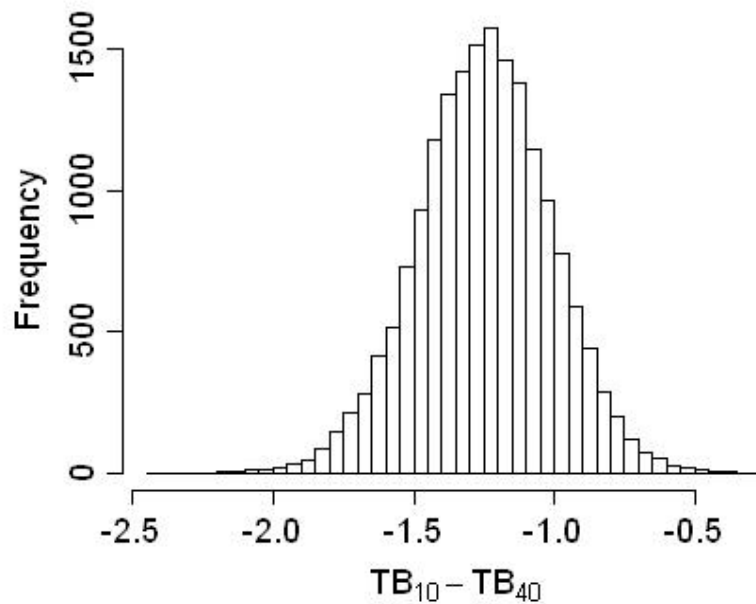
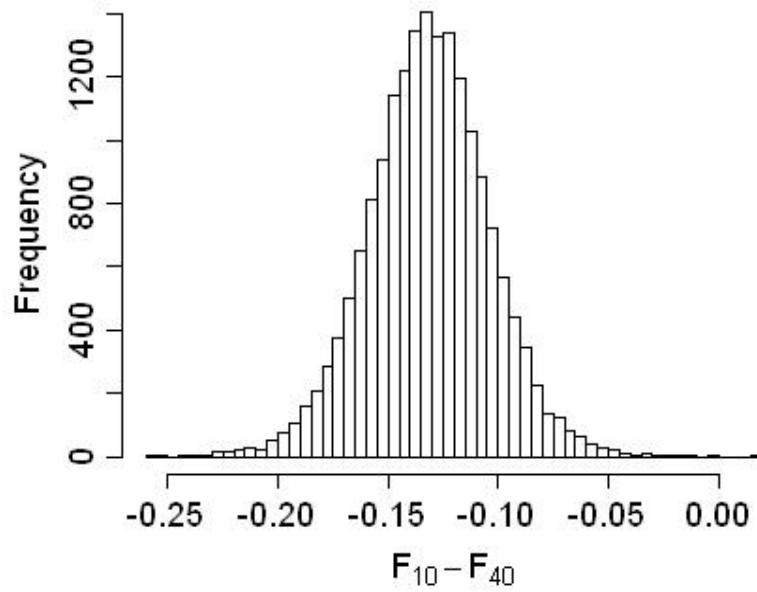
⁵PM = Posterior mean.

⁶HPD95% = Highest posterior density interval at 95%.

⁷MCse = Monte Carlo standard error.

⁸Z = Z-Score of Geweke test.

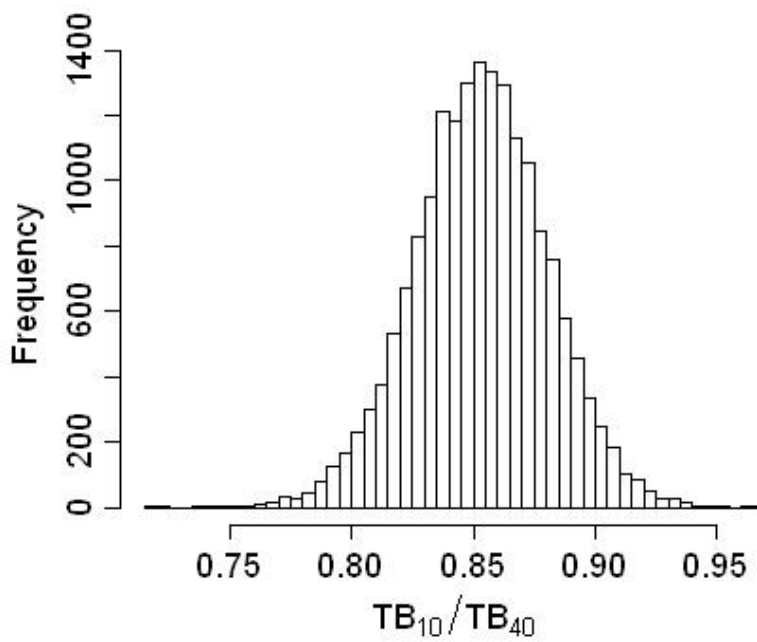
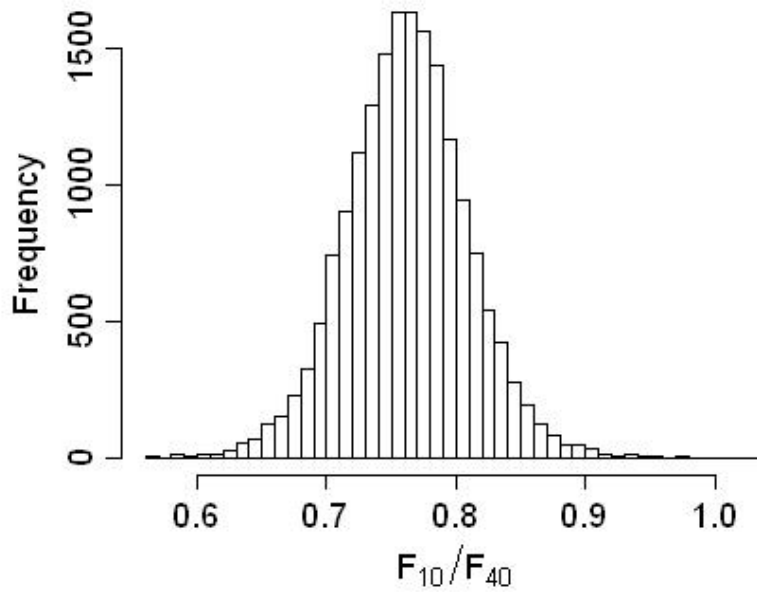
Figure 4. Estimated marginal posterior distribution of the difference between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=10^1, 40^2$).



¹₁₀ = AI with 24 h stored doses with 10×10^6 spermatozoa/mL.

²₄₀ = AI with 24 h stored doses with 40×10^6 spermatozoa/mL.

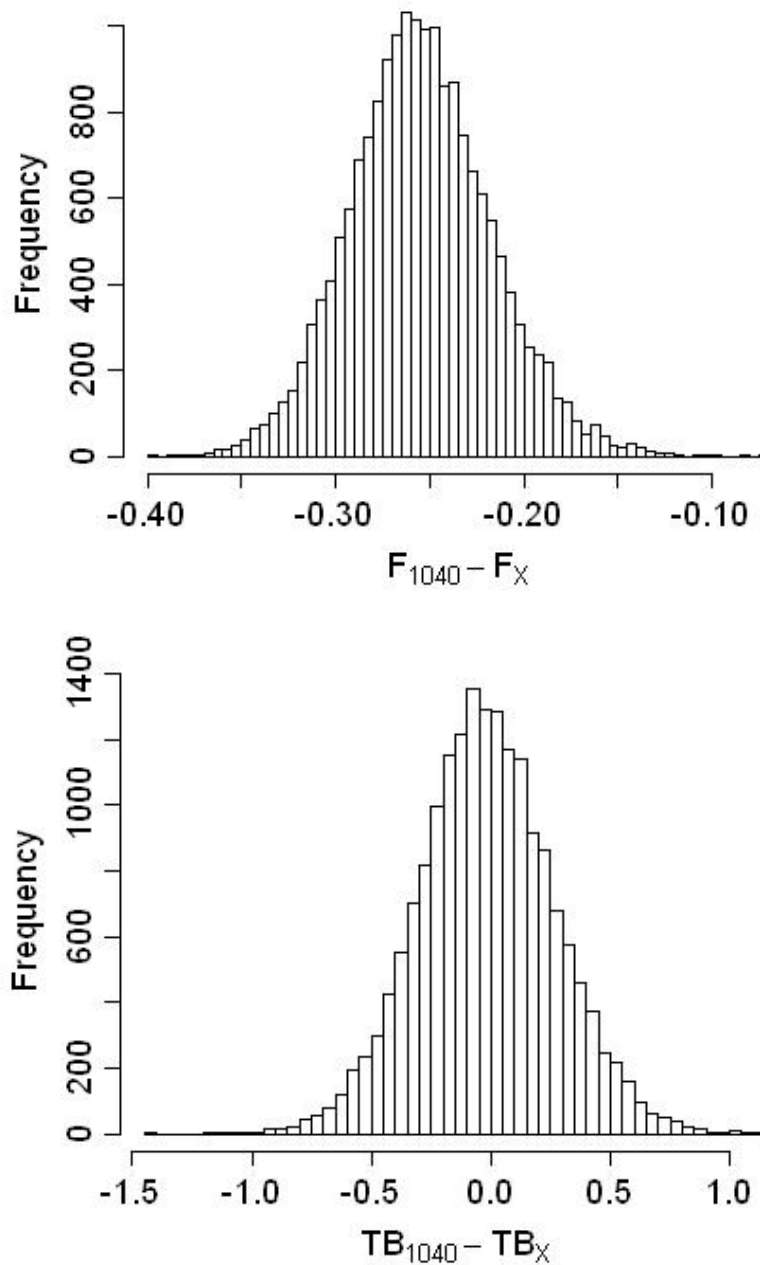
Figure 5. Estimated marginal posterior distribution of ratio between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=10^1, 40^2$).



¹₁₀ = AI with 24 h stored doses with 10 $\times 10^6$ spermatozoa/mL.

²₄₀ = AI with 24 h stored doses with 40 $\times 10^6$ spermatozoa/mL.

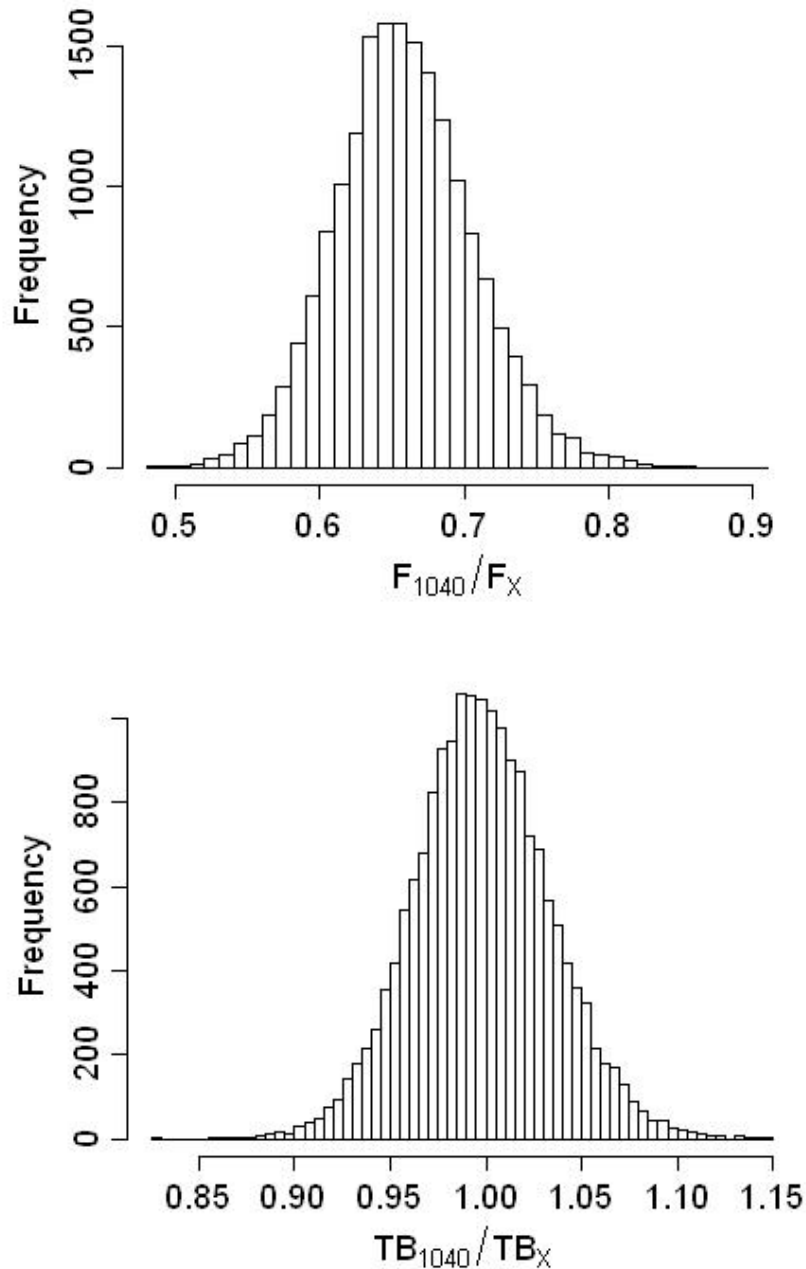
Figure 6. Estimated marginal posterior distribution of the difference between fertility in the observed scale (F_i) and number total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=1040^1, X^2$).



¹1040 = AI with 24 h stored doses applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

² X = AI with fresh doses applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection.

Figure 7. Estimated marginal posterior distribution of ratio between fertility in the observed scale (F_i) and total number of kids born (TB_i) at two different sperm concentration of the AI dose ($i=1040^1, X^2$).



¹1040 = AI with 24 h stored doses applied on crossbred females from two maternal lines in a commercial farm.

² X = AI with fresh doses applied on purebred females from a sire line in a nucleus of selection.

3.3.5. LITERATURE CITED

- Alm, K., O. A. T. Peltoniemi, E. Koskinen, and M. Andersson. 2006. Porcine field fertility with two different insemination doses and the effect of sperm morphology. *Reprod. Domestic Anim.* 41: 210-213.
- Amann, R. P., and R. H. Hammerstedt. 2002. Detection of differences in fertility - andrology lab corner. *J. Androl.* 23: 317-325.
- Baselga, M., M. L. Garcia, J. P. Sanchez, J. S. Vicente, and R. Lavara. 2002. Analysis of litter size traits in a three line diallel cross in rabbits. *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August, 2002. Session 4: 0-4.*
- Brun, J. M., M. Theau-Clement, and G. Bolet. 2002. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 70: 139-149.
- Castellini, C., P. Lattaioli, M. Moroni, and A. Minelli. 2000. Effect of seminal plasma on the characteristics and fertility of rabbit spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 63: 275-282.
- Den Daas, J. H. G., G. De Jong, L. Lansbergen, and A. M. Van Wagtendonk-De Leeuw. 1998. The relationship between the number of spermatozoa inseminated and the reproductive efficiency of individual dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 81: 1714-1723.
- Estany, J., M. Baselga, A. Blasco, and J. Camacho. 1989. Mixed model methodology for the estimation of genetic response to selection in litter size of rabbits. *Livest. Prod. Sci.* 21: 67-75.
- Farrell, B. P., R. H. Foote, M. E. Simkin, E. D. Clegg, and R. J. Wall. 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated, and fertility in rabbits. *J. Androl.* 14: 464-471.
- Garcia-Tomas, M., J. Sanchez, O. Rafel, J. Ramon, and M. Piles. 2006. Variability, repeatability and phenotypic relationships of several characteristics of production and semen quality in rabbit. *Anim. Reprod. Sci.* 93: 88-100.
- Geweke, J. 1992. *Evaluating the accuracy of sampling-based approaches to the calculation of posterior moments.* Oxford University Press, 1992.
- Geyer, C. J. 1992. Practical markov chain monte carlo. *Statistical Science Journal* 7: 473-511.
- Gómez, E. A., O. Rafel, and J. Ramon. 2002. The caldes strain. Rabbit genetic resources in mediterranean countries *Options méditerranéennes, serie B: Etudes et recherches.* p 189-198.

- Gómez, E. A., O. Rafel, J. Ramon, and M. Baselga. 1996. A genetic study of a line selected on litter size at weaning. Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France 2: 289-292.
- Hamann, H., R. Steinheuer, and O. Distl. 2004. Estimation of genetic parameters for litter size as a sow and boar trait in german herdbook landrace and pietrain swine. *Livest. Prod. Sci.* 85: 201-207.
- Kolmodin, R. 2003. Reaction norms for the study of genotype by environment interaction in animal breeding. Phd diss., Swedish University of agricultural Sciences, Uppsala.
- Koops, W. J., M. Grossman, and J. H. G. den Daas. 1995. A model for reproductive efficiency in dairy bulls. *J. Dairy Sci.*: 921-928.
- López, F. J., J. M. R. Alvariño, J. A. Del Arco, F. Delgado, and J. L. Ramiro. 1996. Effect of cooling temperature on 24 hours stored semen for artificial insemination. Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France. 2: 79-81.
- Mathur, P. K. 2002. Methods for estimation and use of genotype-environment interaction. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Communication, N°18-01.
- Maxwell, W. M. C., and L. A. Johnson. 1999. Physiology of spermatozoa at high dilution rates: The influence of seminal plasma. *Theriogenology* 52: 1353-1362.
- Nadir, S., R. G. Saacke, J. Bame, J. Mullins, and S. Degelos. 1993. Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.* 71: 199-204.
- Piles, M., M. L. Garcia, O. Rafel, J. Ramon, and M. Baselga. 2006. Genetics of litter size in three maternal lines of rabbits: Repeatability versus multiple-trait models. *J. Anim. Sci.* 84: 2309-2315.
- Piles, M., O. Rafel, J. Ramon, and L. Varona. 2005. Genetic parameters of fertility in two lines of rabbits with different reproductive potential. *J. Anim. Sci.* 83: 340-343.
- Raftery, A. E., and S. Lewis (Editors). 1992. How many iterations in the gibbs sampler? *Bayesian statistics 4*. Oxford Univ. Press, New York, NY.
- Roca, J., S. Martinez, J. M. Vazquez, X. Lucas, I. Parrilla, and E. A. Martinez. 2000. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in tris-buffer extenders and stored at 15 degrees c. *Anim. Reprod. Sci.* 64: 103-112.

- Rosato, M. P., P. G. Rebollar, and N. Iaffaldano. 2006. Comparación de diluyentes en las características cualitativas del semen de conejo durante su conservación. XXXI Symposium de Cunicultura, Lorca, España: 9-13.
- Saacke, R. G., J. C. Dalton, S. Nadir, R. L. Nebel, and J. H. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.* 60: 663-677.
- See, M. T., J. W. Mabry, and J. K. Bertrand. 1993. Restricted maximum likelihood estimation of variance components from field data for number of pigs born alive. *J. Anim. Sci.* 71: 2905-2909.
- Sorensen, D., and D. Gianola. 2002. Likelihood, bayesian, and mcmc methods in quantitative genetics Springer Science + Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY.
- Sorensen, D. A., S. Andersen, D. Gianola, and I. Korsgaard. 1995. Bayesian-inference in threshold models using gibbs sampling. *Genet. Sel. Evol.* 27: 229-249.
- van der Lende, T., M. H. A. Willemsen, J. A. M. van Arendonk, and E. B. P. G. van Haandel. 1999. Genetic analysis of the service sire effect on litter size in swine. *Livest. Prod. Sci.* 58: 91-94.
- Varona, L., and J. L. Noguera. 2001. Variance components of fertility in spanish landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 67: 217-221.
- Vishwanath, R., and P. Shannon. 1997. Do sperm cells age? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature. *Reprod. Fertil. Dev.*
- Wright, S. 1934. An analysis of variability in number of digits in an inbred strain of guinea pigs. *Genetics* 19: 0506-0536.
- Xu, X., S. Pommier, T. Arbov, B. Hutchings, W. Sotto, and G. R. Foxcroft. 1998. In vitro maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility. *J. Anim. Sci.* 76: 3079-3089.

Referencias bibliográficas

- Adamec, V., R. K. Johnson. 1997. Genetic analysis of rebreeding intervals, litter traits, and production traits in sows of the national czech nucleus. *Livest. Prod. Sci.* 48: 13-22.
- Alm, K., J. Taponen, M. Dahlbom, E. Tuunainen, E. Koskinen, M. Andersson. 2001. A novel automated fluorometric assay to evaluate sperm viability and fertility in dairy bulls. *Theriogenology* 56: 677-684.
- Amann, R. P., R. H. Hammerstedt. 2002. Detection of differences in fertility - andrology lab corner. *J. Androl.* 23: 317-325.
- Berger, T. 1998. Male effects on reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 76: 47-51.
- Boettcher, P. J., J. Fatehi. 2003. Genotype x environment interactions in conventional versus pasture-based dairies in canada. *J. Dairy Sci.* 83: 383-389.
- Boichard, D., E. Manfredi. 1994. Genetic-analysis of conception rate in french holstein cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica Section a-Animal Science* 44: 138-145.
- Braundmeier, A. G., D. J. Miller. 2001. Invited review: The search is on: Finding accurate molecular markers of male fertility. *J. Dairy Sci.* 84: 1915-1925.
- Brun, J. M., M. Theau-Clement, G. Bolet. 2002. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 70: 139-149.
- Castellini, C., P. Lattaioli, M. Moroni, A. Minelli. 2000. Effect of seminal plasma on the characteristics and fertility of rabbit spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 63: 275-282.
- Clay, J. S., B. T. McDaniel. 2001. Computing mating bull fertility from dhi nonreturn data. *J. Dairy Sci.* 84: 1238-1245.
- Correa, J. R., M. M. Pace, P. M. Zavos. 1997. Relationships among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination program. *Theriogenology* 48: 721-731.
- Courtens, J. L., G. Bolet, M. Theauclement. 1994. Effect of acrosome defects and sperm chromatin decondensation on fertility and litter size in the rabbit - preliminary electron-microscopic study. *Reprod. Nutr. Dev.* 34: 427-437.
- DeJarnette, J. M., C. E. Marshall, R. W. Lenz, D. R. Monke, W. H. Ayars, C. G. Sattler. 2004. Sustaining the fertility of artificially inseminated dairy cattle: The role of the artificial insemination industry. *J. Dairy Sci.* 87: E93-104.

- Den Daas, J. H. G., G. De Jong, L. Lansbergen, A. M. Van Wagtendonk-De Leeuw. 1998. The relationship between the number of spermatozoa inseminated and the reproductive efficiency of individual dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 81: 1714-1723.
- Falconer, D. S. 1952. The problem of environment and selection. *Am. Nat.* 86: 293-298.
- Farrell, B. P., R. H. Foote, M. E. Simkin, E. D. Clegg, R. J. Wall. 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated, and fertility in rabbits. *J. Androl.* 14: 464-471.
- Fikse, W. F., R. Rekaya, K. A. Weigel. 2003. Genotype x environment interaction for milk production in guernsey cattle. *J. Dairy Sci.* 86: 1821-1827.
- Foote, R. H. 2003. Fertility estimation: A review of past experience and future prospects. *Anim. Reprod. Sci.* 75: 119-139.
- Gadea, J., E. Selles, M. A. Marco. 2004a. The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions. *Reproduction in Domestic Animals* 39: 303-308.
- Gadea, J., E. Selles, M. A. Marco. 2004b. The predictive value of porcine seminal parameters on fertility outcome under commercial conditions *Reprod. Domestic Anim.* No. 39. p 303-308.
- García-Tomás, M. 2006. Estudi de la millora en lús de mascles d'inseminació artificial en conills. Phd diss., Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Garcia-Tomas, M., J. Sanchez, O. Rafel, J. Ramon, M. Piles. 2006. Reproductive performance of crossbred and purebred male rabbits. *Livestock Science* 104: 233-243.
- Gianola, D. 1982. Theory and analysis of threshold characters. *J. Anim Sci.* 54: 1079-1096.
- González-Recio, O. 2006. Selection for female fertility in spanish dairy cattle. Phd diss, Escuela Técnica de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.
- Haley, C. S., E. Avalos, C. Smith. 1988. Selection for litter size in the pig. *Anim. Breed. Abstr.* 56: 317-332.
- Hamann, H., R. Steinheuer, O. Distl. 2004. Estimation of genetic parameters for litter size as a sow and boar trait in german herdbook landrace and pietrain swine. *Livest. Prod. Sci.* 85: 201-207.
- Jentzer, A. 2008. Performances moyennes des élevages cynicoles en 2007. Présentation rapide des résultats renaceb et renalap. *Cuniculture Magazine* 35: 39-44.

- Kearney, J. F., S. M.M., P. J. Boettcher. 2004. Genotype x environment interaction for grazing vs. Confinement. II. Health and reproduction traits. *J. Dairy Sci.* 87: 510-516.
- Kirkpatrick, M., D. Lofsvold. 1989. The evolution of growth trajectories and other complex quantitative characters. *Genome* 31: 778-783.
- Kolmodin, R. 2003. Reaction norms for the study of genotype by environment interaction in animal breeding. Phd diss., Swedish University of agricultural Sciences, Uppsala.
- Kolmodin, R., E. Strandberg, H. Jorjani, B. Danell. 2003. Selection in presence of a genotype by environment interaction: Response in environmental sensitivity. *Anim. Sci.* 76: 375-385.
- Kolmodin, R., E. Strandberg, P. Madsen, J. Jensen, H. Jorjani. 2002. Genotype by environment interaction in nordic dairy cattle studied using reaction norms. *Acta Agric. Scand., Section A, Anim. Sci.* 52: 11-24.
- Kuhn, M. T., J. L. Hutchison. 2008. Prediction of dairy bull fertility from field data: Use of multiple services and identification and utilization of factors affecting bull fertility. *J. Dairy Sci.* 91: 2481-2492.
- Lamberson, W. R. 1990. Genetic parameters for reproductive traits. *Genetics of Swine*. L. D Young, ed. U. S. Department of Agriculture, Clay Center, NE. 70-76
- Lavara, R., E. Moce, F. Lavara, M. P. V. de Castro, J. S. Vicente. 2005. Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits? *Theriogenology* 64: 1130-1141.
- López, F. J., J. M. R. Alvariño, J. A. Del Arco, F. Delgado, J. L. Ramiro. 1996. Effect of cooling temperature on 24 hours stored semen for artificial insemination. *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France.* 2: 79-81.
- Maxwell, W. M. C., L. A. Johnson. 1999. Physiology of spermatozoa at high dilution rates: The influence of seminal plasma. *Theriogenology* 52: 1353-1362.
- Morrell, J. M. 1995. Artificial insemination in rabbits. *Br. Vet. J.* 151: 477-488.
- Noguera, J. L., L. Varona, D. Babot, J. Estany. 2002. Multivariate analysis of litter size for multiple parities with production traits in pigs: I. Bayesian variance component estimation. *J. Anim Sci.* 80: 2540-2547.
- Oseni, S., I. Misztal, S. Tsuruta, R. Rekaya. Genetic components of days open under heat stress. *J. Dairy Sci.* 87: 3022-3028.

- Pérez-Llano, B., J. L. Lorenzo, P. Yenes, A. Trejo, P. Garcia-Casado. 2001. A short hypoosmotic swelling test for the prediction of boar sperm fertility. *Theriogenology* 56: 387-398.
- Pesch, S., H. Bostedt, K. Failing, M. Bergmann. 2006. Advanced fertility diagnosis in stallion semen using transmission electron microscopy. *Anim. Reprod. Sci.* 91: 285-298.
- Petersson, K. J., R. Kolmodin, E. Strandberg. 2005. Genotype by environment interaction for length of productive life in swedish red and white dairy cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica - Section A: Anim. Sci.* 55: 9-15.
- Piles, M., M. L. Garcia, O. Rafel, J. Ramon, M. Baselga. 2006. Genetics of litter size in three maternal lines of rabbits: Repeatability versus multiple-trait models. *J. Anim. Sci.* 84: 2309-2315.
- Piles, M., O. Rafel, J. Ramon, L. Varona. 2005. Genetic parameters of fertility in two lines of rabbits with different reproductive potential. *J. Anim. Sci.* 83: 340-343.
- Ramon, J. 2002. Gte 2000. Resultados de gestión en españa. *Boletín de Cunicultura* nº 124 Nov-dic.: 32-40.
- Roca, J., S. Martinez, J. M. Vazquez, X. Lucas, I. Parrilla, E. A. Martinez. 2000. Viability and fertility of rabbit spermatozoa diluted in tris-buffer extenders and stored at 15 degrees c. *Anim. Reprod. Sci.* 64: 103-112.
- Rosato, M. P., P. G. Rebollar, N. Iaffaldano. 2006. Comparación de diluyentes en las características cualitativas del semen de conejo durante su conservación. XXXI Symposium de Cunicultura, Lorca, España. 9-13.
- Rosell, J. M., L. F. de la Fuente. 2009. Culling and mortality in breeding rabbits. *Prev. Vet. Med.* 88: 120-127.
- Rosell, J. M. C. 2000. Enfermedades del conejo. Tomo ii enfermedades, Madrid. Barcelona. México.
- Rota, A., N. Penzo, L. Vincenti, R. Mantovani. 2000. Hypoosmotic swelling (hos) as a screening assay for testing in vitro fertility of bovine spermatozoa. *Theriogenology* 53: 1415-1420.
- Rothschild, M. F., J. P. Bidanel. 1998. Biology and genetics of reproduction. *The Genetics of the Pig*. M. F. Rothschild and A. Ruvinsky, ed. CAB International, University Press, Cambridge, UK. 313-343.
- Saacke, R. G., J. C. Dalton, S. Nadir, R. L. Nebel, J. H. Bame. 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Anim. Reprod. Sci.* 60: 663-677.

- Saacke, R. G., S. Nadir, R. L. Nebel. 1994. Relationship of semen quality to sperm transport, fertilization, and embryo quality in ruminants *Theriogenology* 41: 45-50.
- Santacreu, M. A. 2002. Estado y demandas actuales de los programas de mejora del conejo de carne. Xi reunión nacional de mejora genética animal. Pamplona, 2002, 13-14 junio.
- See, M. T., J. W. Mabry, J. K. Bertrand. 1993. Restricted maximum likelihood estimation of variance components from field data for number of pigs born alive. *J. Anim. Sci.* 71: 2905-2909.
- Swierstra, E. E., G. W. Dyck. 1976. Influence of the boar and ejaculation frequency on pregnancy rate and embryonic survival in swine. *J. Anim. Sci.* 42: 455-460.
- Thaller, G. 1998. Genetic and breeding for fertility. *Interbull Bulletin* 18. Proceedings International Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle - Fertility and Reproduction, Grub, Germany, November, 1997 55 - 61.
- Toghiani Pozveh, S., A. A. Shadparvar, M. Moradi Shahrabak, M. D. Taromsari. 2009. Genetic analysis of reproduction traits and their relationship with conformation traits in holstein cows. *Livest. Sci.* 125: 84-87.
- Tusell, Ll., R. Rekaya, M. López-Bejar, M. García-Tomás, O. Rafel, J. Ramon, M. Piles. 2009. Genetic association between male fertility and prolificacy after artificial insemination with semen subjected to limited screening. Joint Annual Meeting. Montreal, Québec, Canada. *Breeding and Genetics: Dairy Cattle Breeding II and Rabbit Breeding*. 2009. *J. Anim. Sci.* 87.
- van der Lende, T., M. H. A. Willemsen, J. A. M. van Arendonk, E. B. P. G. van Haandel. 1999. Genetic analysis of the service sire effect on litter size in swine. *Livest. Prod. Sci.* 58: 91-94.
- Varona, L., J. L. Noguera. 2001. Variance components of fertility in spanish landrace pigs. *Livest. Prod. Sci.* 67: 217-221.
- Via, S., R. Gomulkiewics, G. de Jong, S. M. Scheiner, P. H. van Tienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: Consensus and controversy. *Trends in ecology and evolution* 10, 212-217. 10: 212-217.
- Vicente, J. C. 2001. Aplicación práctica de la inseminación artificial: Organización y manejo de reproductores. Jornadas profesionales de cunicultura. Calella. Spain 10: 1-12.

- Vicente, J. S., M. P. Viudes-de-Castro, R. Lavara, F. Lavara. 2000. Effect of male line on prolificacy from does inseminated with low sperm doses. *Journal of the World Rabbit Science Association* 8 Suppl. 1.
- Vishwanath, R., P. Shannon. 1997. Do sperm cells age? A review of the physiological changes in sperm during storage at ambient temperature. *Reprod. Fertil. Dev.*
- Viudes-de-Castro, M. P., J. S. Vicente. 1997. Effect of sperm count on the fertility and prolificity rates of meat rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 46: 313-319.
- Wakefield, J. C., A. F. M. Smith, A. Racine-Poon, A. E. Gelfand. 1994. Bayesian analysis of linear and non-linear population models by using the gibbs sampler. *Appl. Statist.* 43: 2201-2221.
- Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, A. J. McAllister. 2002. Trends in reproductive performance in southeastern holstein and jersey dhi herds. *J. Dairy Sci.* 85: 244-251.
- Weigel, K. A., R. Rekaya. 2000. Genetic parameters for reproductive traits of holstein cattle in california and minnesota. *J. Dairy Sci.* 83: 1072-1080.
- Weller, J. I., M. Ron. 1992. Genetic analysis of fertility traits in israeli holsteins by linear and threshold models. *J. Dairy Sci.* 75: 2541-2548.
- Windig, J. J., M. P. L. Calus, B. Beerda, R. F. Veerkamp. 2006. Genetic correlations between milk production and health and fertility depending on herd environment. *J. Dairy Sci.* 89: 1765-1775.
- Yagüe, G., F. Goyache, J. Becerra, C. Moreno, L. Sánchez, J. Altarriba. 2009. Bayesian estimates of genetic parameters for pre-conception traits, gestation length and calving interval in beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 114: 72-80.