

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRÒNOMICA I DEL MEDI NATURAL



Estudio de la resiliencia en dos líneas comerciales de conejos

Trabajo fin de Grado en Ingeniería Agroalimentaria y
del Medio Rural

Autora: Dña. Paula Bono Pedralva

Tutora: Dña. María Antonia Santacreu Jerez

Valencia, junio 2020

RESUMEN

La resiliencia, que es la capacidad de los animales a hacer frente a los cambios en el ambiente, está relacionada con la mayor o menor sensibilidad al estrés y a las enfermedades. El objetivo del presente trabajo es estudiar algunos biomarcadores de resistencia a enfermedades antes y después de la vacunación contra la enfermedad vírica hemorrágica (RHD) en dos líneas maternas de conejos, una línea fundada con criterios de longevidad (línea B) y una línea de longevidad estándar (línea A). Antes de la vacunación (0 horas), la línea A presentó una mayor concentración de proteína C reactiva basal (PCR) que la línea B (+44.4998 $\mu\text{g/ml}$, $P = 1.00$). Esta mayor concentración de PCR en la línea A antes de la vacuna indicaría una mayor respuesta inflamatoria y por tanto una mayor sensibilidad a los factores ambientales estresantes. Setenta y dos horas (72 h) después de la vacunación, la línea A seguía mostrando mayor concentración de PCR (+25.89 $\mu\text{g/ml}$), no obstante, la línea B mostró una respuesta más elevada tras la inyección de la vacuna que la línea A (+15.22 $\mu\text{g/ml}$); esta mayor respuesta en la línea B estaría relacionado con una buena respuesta inflamatoria. Para la proteína de complemento C3, no se han detectado diferencias entre las líneas en los dos momentos estudiados. En lo que respecta a la bilirrubina, no hay bastantes evidencias de la existencia de diferencias entre ambas líneas antes de la vacunación ($P = 0,73$), no obstante, la línea A mostró niveles de bilirrubina más bajos que la línea de B después de la vacunación (-0,1745 $\mu\text{mol/l}$, $P = 0,96$). Esta débil respuesta observada en la línea A podría justificarse debido a una mayor sensibilidad a las enfermedades. Ambas líneas mostraron concentraciones similares de triglicéridos y colesterol antes y después de la vacunación, pero la respuesta a la vacunación fue mayor en la línea B que en la línea A para los triglicéridos (+0.056 $\mu\text{mol/l}$), lo que está relacionado con una buena respuesta del metabolismo hepático en la lucha contra infecciones y la reducción de inflamaciones. En conjunto, los biomarcadores estudiados presentaron mejores resultados en la línea B lo que indicaría que los animales de esta línea presentan una mayor resiliencia.

Palabras clave: Resiliencia, biomarcadores, resistencia a enfermedades, respuesta inflamatoria y longevidad.

ABSTRACT

Resilience, the ability of animals to cope with changes in the environment, is related with sensitivity to stress and diseases. The objective of the present work is to study some biomarkers of disease resistance before and after vaccination against hemorrhagic viral disease (RHD) in two maternal lines of rabbits, a line founded using longevity criteria (line B) and a standard longevity line (line A). Before vaccination (0 hours), line A presented a higher concentration of basal reactive protein C (PCR) than line B (+44.4998 $\mu\text{g} / \text{ml}$, $P = 1.00$). This greater concentration of PCR in line A before vaccination would indicate a higher inflammatory response and a higher sensibility to the stressful environmental factors. Seventy-two hours after vaccination, line A still showed a higher concentration of PCR (+25.89 $\mu\text{g} / \text{ml}$), however, line B showed a higher response after injection of the vaccine than line A (+15.22 $\mu\text{g} / \text{ml}$); this greater response in line B would be related to a good functionality of the inflammatory system. For the C3 complement protein, no differences were detected between the lines. Regarding bilirubin, there is not enough evidence of having differences between both lines before vaccination ($P = 0.73$) but line A showed lower bilirubin levels than line B after vaccination (-0.1745 $\mu\text{mol} / \text{l}$, $P = 0.96$). This weak response to stimulation in line A could be explained by a high susceptibility to diseases. Both lines showed similar concentrations of triglycerides and cholesterol before and after vaccination, but the response to vaccination was greater in line B than in line A for triglycerides (+0.056 $\mu\text{mol} / \text{l}$), which is related to a good response of the liver metabolism in the fight against infections and the reduction of inflammations. Overall, the studies biomarkers presented better results in line B, which would relate to a higher resilience.

Keywords: Resilience, biomarkers, disease resistance, inflammatory response and longevity.

AGRADECIMIENTOS

“Las especies que sobreviven no son las más fuertes, ni las más rápidas, ni las más inteligentes; sino aquellas que se adaptan mejor al cambio.”

Charles Darwin

Sin los cambios no hubiera habido evolución, pero, ¿y lo difíciles que son? Todos realizamos cambios, no son fáciles de llevar, pero si tienes personas que te quieren al lado, son más llevaderos. Una de ellas es el amor de mi vida, Víctor, que nunca dudó de mí y me aportó la fuerza que necesitaba. Esto tampoco habría podido pasar sin el apoyo de mis padres y mi hermano, que con su amor me han consolado infinidad de veces. También me gustaría agradecer a mis suegros toda la ayuda que me han aportado. Por último, agradecer a mi tutora Toñi por sacarme de mi zona de confort. Sin todas estas personas, esto no hubiera sido tan fácil.

Gracias de corazón.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Estado actual del sector cunícola	1
1.1.1.	Estado actual en España.....	1
1.1.2.	Estado actual en el mundo	2
1.2.	Difusión del material genético.....	3
1.2.1.	Líneas y núcleos de selección	3
1.2.2.	Caracteres de selección.....	4
1.3.	La resiliencia	4
1.3.1.	Definición de la resiliencia.....	4
1.3.2.	Medición de la resiliencia en animales	5
1.3.2.1.	Biomarcadores relacionados con sistema inmunológico	5
1.3.2.2.	Biomarcadores del metabolismo lipídico.....	6
2.	OBJETIVOS	7
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
3.1.	Material animal.....	8
3.1.1.	Línea A	8
3.1.2.	Línea B.....	9
3.2.	Protocolo experimental	9
3.3.	Caracteres estudiados.....	9
3.4.	Análisis estadístico.....	11
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
5.	CONCLUSIONES	17
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3. 1.: Número de hembras analizadas según línea para los caracteres estudiados	10
Tabla 3. 2.: Número de hembras utilizados por lotes para los caracteres estudiados	10
Tabla 3. 3.: Número de datos por línea y hora para los caracteres estudiados	11
Tabla 4. 1.: Parámetros de dispersión y de centralización de la línea B a 0 horas para los caracteres estudiados.....	13
Tabla 4. 2.: Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre la línea A y la línea B para la concentración de la proteína C reactiva (PCR) y la proteína de complemento (C3).....	15
Tabla 4. 3.: Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre la línea A y la línea B para la concentración de la bilirrubina, triglicéridos y colesterol	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1.: Evolución del consumo de carne de conejo en los hogares (periodo Enero-Octubre) (Mapama, 2019)	1
Figura 1. 2.: Evolución de los precios en España de la carne de conejo (Mapama, 2019)	2
Figura 1. 3.: Producción de carne a nivel mundial (FAOSTAT, 2018)	3
Figura 1. 4.: Esquema organización piramidal en cunicultura	3
Figura 3. 1.: Raza Neozelandesa de conejas.....	8
Figura 4. 1.: Caja con bigotes para el carácter concentración de triglicéridos en plasma a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).....	14
Figura 4. 2.: Caja con bigotes para el carácter concentración de bilirrubina en plasma a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).....	14

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Estado actual del sector cunícola

1.1.1. Estado actual en España

El futuro mercado de este sector es incierto, ya que el consumo de carne de conejo ha ido disminuyendo en los últimos años (Figura 1.1.).

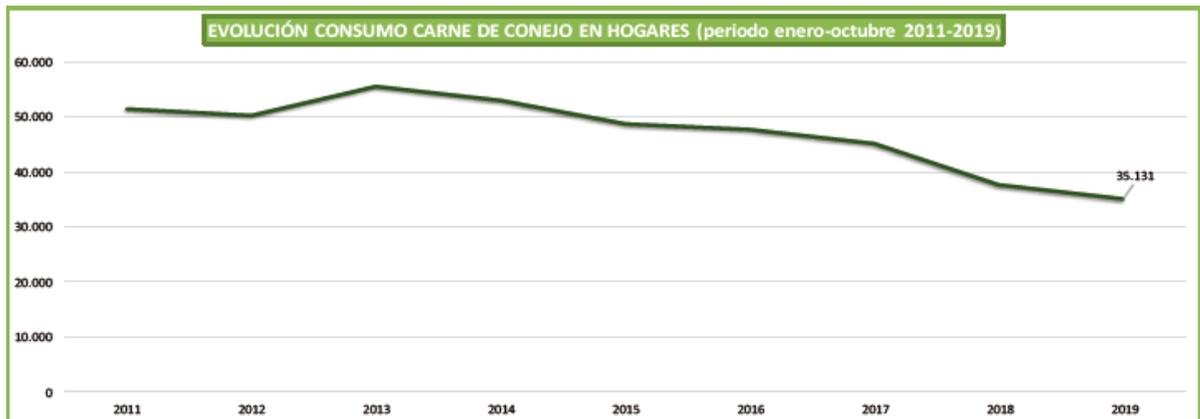


Figura 1. 1.: Evolución del consumo de carne de conejo en los hogares (periodo Enero-Octubre)
(Mapama, 2019)

La situación actual del sector cunícola es preocupante debido a una serie de factores entre los que cabría señalar (Mapama, 2019):

- La carne de conejo ha padecido en los últimos años una baja rentabilidad y una gran variabilidad en el precio a lo largo del año (Figura 1.2.). Por ejemplo, en la campaña de 2018 (Figura 2) se puede observar una gran desestabilidad del mercado a principios de año, se estabiliza en verano y sigue una época de subidas constantes de precio, con una cifra máxima de 2,34 €/kg. Finalmente, la campaña termina con una caída del precio en el período navideño.

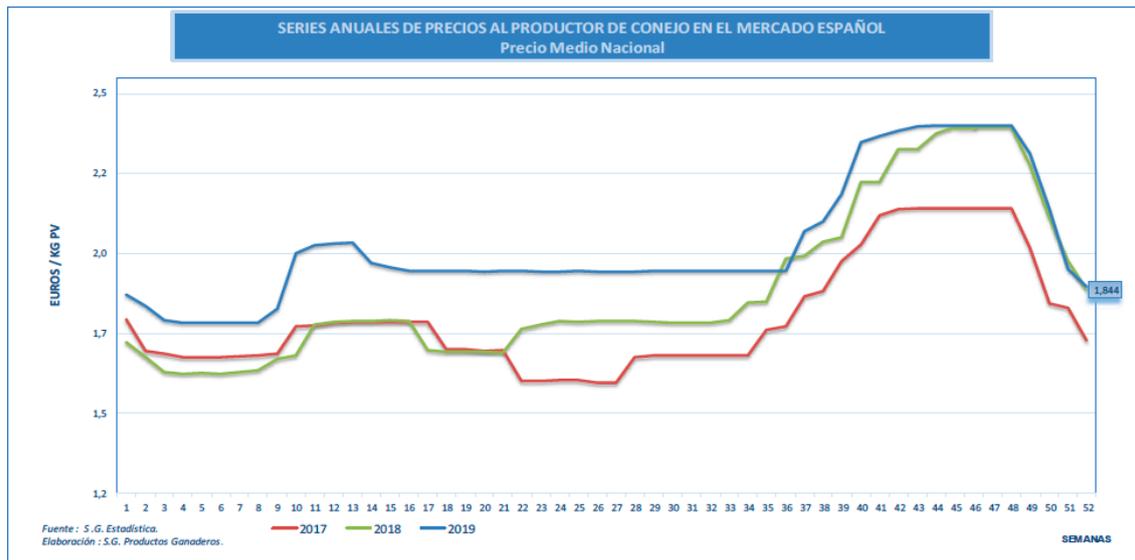


Figura 1. 2.: Evolución de los precios en España de la carne de conejo (Mapama, 2019)

- Hay explotaciones que se resisten a modernizarse, por lo tanto, los gastos son mayores a sus ingresos.
- La falta de exportación de dicha carne también es un problema ya que los países con mayor consumo de carne de conejo, como Italia, Francia, Portugal y España, tienen un autoabastecimiento elevado, por lo que no les hace falta importar carne de otros países.
- La cantidad de carne que se importa de otros países (sobre todo Francia) es muy superior a la cantidad que se exporta.
- El formato ofrecido al consumidor es normalmente la canal entera, siendo esta normalmente rechazada por la población más joven. El consumo per cápita de carne de conejo del 2019 es de 0,94kg/persona. Comparándolo con otras carnes, como la del cerdo o el pollo, las diferencias son abismales (9,9 kg/persona y año en el caso del cerdo y 12,57 kg/persona y año en el caso del pollo).
- Por último, la valorización de la piel de este animal ha sido aleatoria, con subidas y bajadas vertiginosas.

A pesar de la escasa rentabilidad aparentemente de este sector, no se debe olvidar que España es el primer productor de carne de conejo en la UE, representando un 25,5% de la producción total de esta (FAOSTAT, 2018).

1.1.2. Estado actual en el mundo

La carne de conejo, desde el punto de vista mundial, tiene más importancia que en el ámbito nacional, siendo esta la quinta carne más consumida.

El mayor productor de este tipo de carne a nivel mundial sería China, seguido de la Unión Europea y, por último, estaría Corea del Norte (Figura 1.3.; FAOSTAT, 2018).

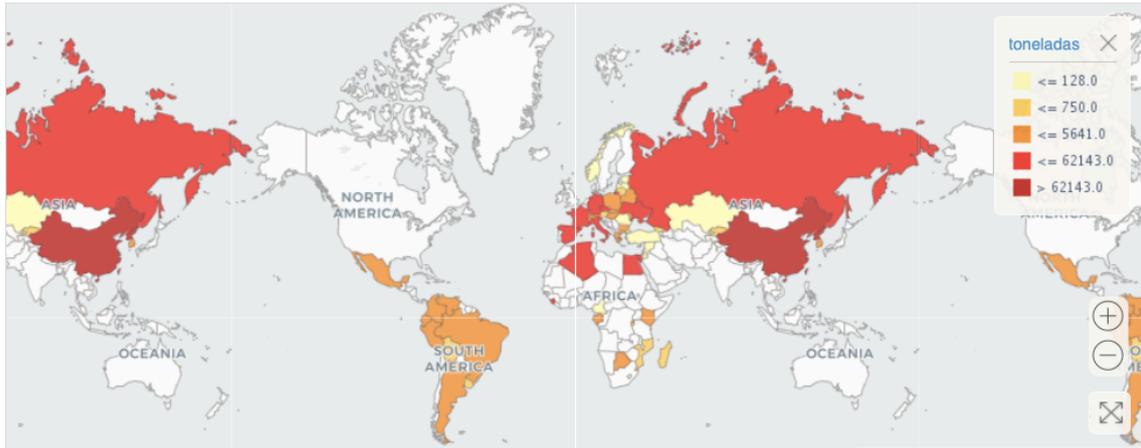


Figura 1. 3.: Producción de carne a nivel mundial (FAOSTAT, 2018)

1.2. Difusión del material genético

1.2.1. Líneas y núcleos de selección

El desarrollo de programas de mejora genética es imprescindible para mejorar la rentabilidad de las explotaciones cunícolas. La organización de la mejora genética del conejo, como en el resto de especies prolíficas de interés productivo, es de tipo piramidal (Figura 1.4.). En general, esta organización se basa en la selección de tres líneas comerciales en los núcleos de selección, dos líneas maternas y una paterna y su posterior cruce (Mínguez, 2011). Se realiza un primer cruce de las líneas maternas para producir la hembra cruzada o híbrida en las granjas multiplicadoras y un segundo cruce entre las hembras híbridas y machos de la línea paterna en las granjas comerciales. Las hembras híbridas también son conocidas como “madres” por ser este el parentesco con el producto comercial. Las líneas suelen ser de tamaño reducido, entre 20-25 machos y 80-120 hembras y de forma excepcional se supera el número de 50 machos y 250-300 hembras por línea (Baselga, 1995).



Figura 1. 4.: Esquema organización piramidal en cunicultura

En España, las granjas donde se encuentran las “madres” (las llamadas multiplicadoras) se denominan núcleos de selección secundarios. Los animales de estos núcleos secundarios son suministrados por los núcleos de selección primarios. Los núcleos primarios abastecen a los núcleos secundarios de machos y hembras de una de las líneas maternas, para que así se puedan formar una réplica de la línea. A continuación, el personal del núcleo de selección secundario se hace cargo de la selección de la línea con la supervisión del personal de los núcleos de selección primarios. Así, la mejora se difunde hacia otras granjas a través de la reproducción de animales en granjas de multiplicación o en algunos casos en la propia granja de producción. Dos ejemplos de núcleos primarios en España son la granja de selección de la Universitat Politècnica de València y el Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries (IRTA) (Fernández, 2016).

1.2.2. Caracteres de selección

En la producción de carne de conejo, los caracteres más importantes desde el punto de vista económico son el índice de conversión y el tamaño de camada (Cartuche et al., 2014). El criterio de selección más utilizado en las líneas maternas es el tamaño de camada al destete, este carácter tiene en cuenta la prolificidad y la capacidad de la hembra para destetar camadas grandes. Por otro lado, el criterio de selección que se utiliza para mejorar indirectamente el índice de conversión es la velocidad de crecimiento durante el periodo de engorde. La selección por velocidad de crecimiento se realiza en la línea paterna.

En los últimos años, se ha despertado el interés de los ganaderos por tener animales con una mejor resiliencia debido a que los animales han aumentado su productividad, pero son más sensibles a enfermedades y se ha resentido su bienestar (Rauw et al., 1998).

En el departamento de Ciencia Animal de la UPV se ha fundado una línea (línea B) a partir de hembras con elevada longevidad y una producción media. La creación de esta línea responde a ese interés de los ganaderos de disponer de animales más robustos, es decir, animales con una buena producción y resilientes (menos sensibles a factores ambientales estresantes ya que se saben adaptar a los cambios ambientales). Entre estos factores ambientales estresantes se incluyen algunos tan comunes como el calor o como la aparición de brotes de algunas de las patologías más frecuentes en cunicultura. Estos factores afectan tanto a la producción como a la supervivencia de los animales y su bienestar. Esta línea es una de las líneas que se estudia en este trabajo junto con otra línea materna que presenta una longevidad estándar, la línea A.

1.3. La resiliencia

1.3.1. Definición de la resiliencia

Según Hermes (2014), la resiliencia se define como la habilidad del animal de mantener la productividad ante situaciones ambientales variables. Otra definición más reciente es que la resiliencia es la capacidad del animal para ser afectado mínimamente por disturbios/desafíos o para regresar rápidamente al estado previo a la exposición del disturbio (Berghof et al., 2019). En esa respuesta adaptativa para minimizar el impacto de factores ambientales estresantes subyace una serie de procesos biológicos.

La importancia de la resiliencia reside en que los animales con una mayor capacidad de hacer frente a los cambios ambientales mostrarán una menor sensibilidad al estrés y a las enfermedades. Según Berghof et al., (2019), un animal que presente una mayor resiliencia será un animal más sano, lo que implica menos mano de obra y menos costes sanitarios. Además, los animales con mayor resiliencia presentarán una menor variabilidad en la producción a lo largo de su vida productiva y una supervivencia más alta, lo que conlleva una mayor longevidad.

En conejos, Argente et al., (2019), muestran como las hembras seleccionadas para disminuir la variabilidad del tamaño de camada entre sus diferentes partos son menos sensibles al estrés y a las enfermedades en situaciones adversas o estresantes.

1.3.2. Medición de la resiliencia en animales

Hay una serie de procesos biológicos que subyacen a la resiliencia y que se relacionan con las respuestas adaptativas que ocurren para minimizar el impacto de un factor estresante. Por ello, se ha propuesto la medida de algunos de los parámetros biológicos asociados al estrés o respuesta inmune como una forma indirecta de estimar la menor o mayor sensibilidad de los animales a los cambios en las condiciones ambientales. Entre los parámetros biológicos más utilizados en humanos y en animales para medir la resiliencia caben destacar el recuento del total de glóbulos blancos y sus diferentes tipos, la concentración de proteínas de fase aguda y proteínas complemento por su relación con la respuesta inflamatoria y algunos biomarcadores del metabolismo del hígado relacionados con la respuesta inmune. Estos dos últimos tipos de marcadores son el objeto de estudio en este trabajo fin de grado y se van a tratar con más detalle en los siguientes subapartados.

1.3.2.1. Biomarcadores relacionados con sistema inmunológico

El complemento C3 y la proteína C reactiva están relacionados directamente con el sistema inmunológico de los animales. Al aumentar las concentraciones de estos parámetros el sistema inmune del animal desencadena una serie de procesos antiinflamatorios. A continuación, se va a desarrollar las funciones de cada uno de estos biomarcadores:

- El complemento C3 está compuesto por un total de 9 proteínas (de la C1 a la C9), siendo la proteína C3 la más abundante y con mayor importancia en el sistema inmunológico. Estas proteínas circulan libremente por el torrente sanguíneo, protegiendo al cuerpo de infecciones, células muertas, así como objetos extraños que puedan provocar enfermedades que supongan una amenaza para el bienestar del individuo.
- La proteína en fase aguda: la proteína C reactiva (PCR) se trata de un tipo de proteínas plasmáticas que forman parte de la respuesta inmunológica innata. Estas son sintetizadas por el hígado el cuál ante la presencia de una infección o durante un proceso inflamatorio aumenta la concentración de este tipo de proteínas rápidamente, llegando hasta cien veces más de su valor inicial.

Estos marcadores se han utilizado en conejos como indicadores de la resiliencia. Según Argente et al., (2017), estos marcadores informan sobre el estado de salud del animal y su susceptibilidad a procesos infecciosos; en este trabajo se concluye que la resiliencia está genéticamente

relacionada con la sensibilidad ambiental. Otros estudios, como el llevado a cabo por Eckersall (2000), emplean estos indicadores de resiliencia para detectar la presencia de enfermedades en animales.

1.3.2.2. Biomarcadores del metabolismo lipídico

Los parámetros relacionados con el metabolismo lipídico están involucrados en la respuesta frente a enfermedades. A continuación, se va a desarrollar las funciones de cada uno de estos biomarcadores:

- El colesterol es uno de los precursores en la formación de las hormonas corticoides las cuales están implicadas en diferentes funciones fisiológicas, como las que regulan la inflamación, el sistema inmunitario, el metabolismo de los hidratos de carbono y las que caracterizan la respuesta frente al estrés (Cachofeiro, 2009).
- Los triglicéridos, al ser una grasa parecida al colesterol, tiene la misma función aparente en este estudio, también es precursor de las hormonas corticoides.
- La bilirrubina a concentraciones normales tiene funciones fisiológicas como un potente antioxidante y antiinflamatorio y como tal, puede evitar la oxidación de lípidos y de otras sustancias de manera más eficiente que la vitamina E, postulándose como uno de los principales mecanismos de defensa presentes en el suero contra el estrés oxidativo y puede tener efectos protectores pulmonares, cerebrales, hepatobiliares, inmunológicos y cardiovasculares (Otero et al., 2009).

Estos biomarcadores se utilizan en diversos estudios relacionados con la medida de la resiliencia. Argente et al., (2018), observan que la selección divergente por variabilidad del tamaño de camada conduce a una respuesta correlacionada en la resiliencia de estas líneas. Se han encontrado estudios donde los triglicéridos u ambas lipoproteínas (colesterol y triglicéridos) participan en la inmunidad innata (Barcia et al., 2005; Khovidhunkit et al., 2019).

2. OBJETIVOS

➤ OBJETIVO GENERAL

Estudiar algunos biomarcadores de la resiliencia en dos líneas maternas, la línea B, una línea fundada usando criterios de longevidad, y la línea A, una línea de longevidad estándar.

➤ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer los valores medios en condiciones normales (valores basales) para los siguientes marcadores bioquímicos: bilirrubina, triglicéridos, colesterol, proteína C-Reactiva y complemento C3 en las líneas A y B.
- Estudiar si hay diferencias entre ambas líneas en la respuesta inmunológica después de vacunar a los animales para la enfermedad vírica hemorrágica utilizando dichos marcadores bioquímicos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material animal

Se han utilizado para la mayoría de los caracteres estudiados 40 hembras, 20 hembras de cada una de las dos líneas estudiadas, las líneas A y B. Las hembras eran nulíparas y tenían entre 18 y 20 semanas de vida.

Las hembras estaban alojadas desde las 4 semanas en jaulas colectivas en una nave con temperatura y ventilación controladas de la granja de mejora genética del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València. Durante el engorde, las conejas fueron alimentadas ad libitum con una dieta comercial con una composición de 15,0% de proteína bruta, 16,8% de fibra bruta, 2,4% de grasa bruta, y 7,3% de cenizas de NANTA, S.A.® (Valencia, España). A partir de los 63 días de vida, las conejas fueron alimentadas con otra dieta comercial (proteína bruta, 16,5%; fibra bruta, 15,0%, grasa bruta, 3,0% y cenizas, 7,8% de NANTA, S.A.®).

3.1.1.Línea A

Se trata de la línea más antigua fundada en la Universitat Politècnica de València.

Los trabajos de fundación de la línea A se iniciaron en 1976 muestreando conejos de la raza neozelandesa (NZW), criados por cunicultores en las proximidades de Valencia (España) (Otero, 2018).

La fundación de esta línea presentó una serie de problemas iniciales tanto a nivel productivo, puesto que los animales se muestrearon de poblaciones de la raza (NZW) sin tener en cuenta su producción, como a nivel sanitario, dado que cada granja posee un microbismo particular y al juntar animales de diferentes granjas se presentaron problemas sanitarios de gran importancia. La línea se selecciona por un índice familiar para aumentar el tamaño de camada al destete desde 1980 (Baselga et al., 1984; Estany et al., 1989). Actualmente, esta línea se encuentra en la generación 50 de selección y se mantiene cerrada desde su fundación.



Figura 3. 1.: Raza Neozelandesa de conejas

3.1.2.Línea B

También conocida como línea longevo-productiva y robusta.

Para la fundación de esta línea en cuestión se muestrearon animales de un gran número de granjas comerciales en España y Portugal y se aplicó una elevada intensidad de selección para el carácter de interés que era una elevada longevidad. El criterio de selección fue que las hembras tuvieran al menos 25 partos y una media de nacidos vivos de 7,5 (Sánchez et al., 2008).

Esta línea es una línea sintética ya que se ha originado a partir de diversos cruces sin tener registro de las razas utilizadas en estos.

La línea se selecciona por tamaño de camada al destete y en la actualidad se encuentra en la generación 16 de selección, manteniéndose cerrada desde su fundación.

3.2. Protocolo experimental

A primera hora de la mañana, los animales se pesaban y se realizaba la primera extracción de sangre. Cuando se terminaba de hacer la extracción, se vacunaba contra la enfermedad viral hemorrágica de forma subcutánea (CUNIPRAVAC® RHD) para estimular el sistema inmune e inmediatamente se apuntaba la hora. El momento de la vacunación se consideró como tiempo de referencia para las siguientes extracciones y se designó como momento 0 horas.

La extracción de sangre se hizo a partir de la arteria central auricular. A 0 horas, la sangre se recolectó en dos tubos K3-EDTA y un tubo de heparina de litio (LH) con un volumen de muestra de 3 ml cada uno. Uno de los tubos K3-EDTA fue usado para la realización del hemograma (estos datos no forman parte de este trabajo); los otros dos tubos fueron centrifugados a 4000 rpm durante 15 minutos, se recogió plasma y se almacenó en eppendorf a -80 °C hasta el análisis de la concentración del colesterol, bilirrubina, triglicéridos, proteína C-Reactiva y complemento C3.

Tres días después de la inyección de la vacuna para la enfermedad vírico-hemorrágica (72 horas), se volvió a realizar otra extracción de sangre para estudiar los cambios en los niveles de bilirrubina, colesterol, proteína C-Reactiva, complemento C3 y triglicéridos siguiendo el mismo procedimiento que se ha descrito a 0 horas.

3.3. Caracteres estudiados

Proteína C-reactiva (PCR): la concentración plasmática de PCR se cuantificó antes y después de la vacunación con CUNIPRAVAC® RHD, utilizando un kit ELISA disponible comercialmente para conejos (número de catálogo 2210-5; Life Diagnostics Inc., West Chester, PA, EE. UU.)

Proteína de complemento C3 (C3): la concentración plasmática se cuantificó utilizando un kit ELISA disponible comercialmente para conejos (número de catálogo CSB-E08668Rb; CUSABIO Technology LLC, Houston, Texas, EE. UU.).

Parámetros bioquímicos: Las concentraciones plasmáticas de bilirrubina, triglicéridos y colesterol se analizaron utilizando un método estandarizado y automático Spin modelo 200E utilizando

reactivos de Spinreact (Girona, España). Los parámetros bioquímicos se cuantificaron antes y después de la vacunación con CUNIPRAVAC® RHD.

Tabla 3. 1.: Número de hembras analizadas según línea para los caracteres estudiados

Línea	Colesterol	Triglicéridos	Bilirrubina	C3	PCR
A	20	20	20	20	20
B	20	20	20	21	21
Totales	40	40	40	41	41

PCR: Proteína C-reactiva; C3: Proteína del complemento C3

Tabla 3. 2.: Número de hembras utilizados por lotes para los caracteres estudiados

Lote	Colesterol	Triglicéridos	Bilirrubina	C3	PCR
1	16	16	16	17	17
2	11	11	11	11	11
3	13	13	13	13	13
Totales	40	40	40	41	41

PCR: Proteína C-reactiva; C3: Proteína del complemento C3

Tabla 3. 3.: Número de datos por línea y hora para los caracteres estudiados

Línea-Hora	Colesterol	Triglicéridos	Bilirrubina	C3	PCR
A-0h	20	20	20	20	19
B-0h	20	20	20	21	21
A-72h	20	20	20	20	19
B-72h	20	20	20	21	21
Totales	80	80	80	82	80
Total	402				

A: línea A; B: línea B; 0h: momento de la vacunación contra la enfermedad viral hemorrágica; 72h: 72 horas después de la vacunación contra la enfermedad viral hemorrágica; PCR: Proteína C-reactiva; C3: Proteína del complemento C3

3.4. Análisis estadístico

Se ha realizado un análisis descriptivo con el programa RStudio. Se evaluaron los parámetros de dispersión, la varianza y la desviación típica, y los parámetros de centralización, media, moda y mediana con todos los datos; estos parámetros descriptivos también se calcularon para cada línea a la que pertenecen las hembras y los tiempos donde se realizaron las extracciones de sangre (0 y 72 horas). Además, se hicieron análisis de cajas con patillas para la detección de datos anómalos. A partir de esta información, se eliminaron algunos datos anómalos por considerar que se debían a fallos en la toma de datos o en el análisis.

- 2 datos en complemento C3 a 0h de la línea A
- 3 datos en Proteína C Reactiva a 0h y 72h de la línea B
- 2 datos en Colesterol a 0h y 72h de la línea B
- 4 datos en Triglicéridos a 0h y 72h de las dos líneas

Mediante un análisis de regresión simple con el programa RStudio se estudió la relación entre el peso de las hembras con los caracteres seleccionados. El coeficiente de regresión no fue significativo para ninguno de los caracteres estudiados y el coeficiente de correlación fue muy bajo en todos los casos, por lo que se desestimó el peso como factor en los análisis bayesianos posteriores.

Para estudiar las diferencias entre líneas se llevó a cabo un análisis bayesiano con el programa estadístico Rabbit con el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + p_i + LH_j + L_k + e_{ijk}$$

Los componentes de esta ecuación son los siguientes: μ es la media; π_i es el efecto permanente de la hembra; LH_j es el efecto Línea-Hora con 4 niveles resultado de la combinación del efecto línea (líneas A y B) y los dos momentos de recogida de la muestra (0 horas y 72 horas: Línea A-0 horas, Línea B-0 horas, Línea A-72 horas, Línea B-72 horas) para todos los caracteres estudiados; L_k es el efecto lote con tres niveles y, por último, e_{jik} es el error residual.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las líneas maternas A y B, se fundaron en la Universitat Politècnica de València (UPV), utilizando diferentes criterios, como ya se ha comentado en apartados previos. La línea A se fundó a partir de animales que cumplieran el estándar fenotípico de la raza Neozelandesa Blanca sin tener en cuenta su producción. La línea B se fundó a partir de hembras con una muy elevada longevidad, más de 25 partos, procedentes de granjas comerciales. En las granjas comerciales, los principales criterios de eliminación de las hembras son los problemas reproductivos, baja productividad y problemas patológicos. Las hembras que han tenido ese número tan elevado de partos son hembras que se adaptan bien a los cambios y retos ambientales sin bajar su productividad, y se espera que las hembras de la línea B sean más robustas. Los animales más robustos son animales que saben hacer frente a los cambios en el ambiente sin bajar su productividad y sin ser más susceptibles a sufrir enfermedades.

La Tabla 4.1. muestra los parámetros de dispersión y de centralización de los caracteres estudiados. Los valores se encuentran dentro del rango obtenido por otros autores (Argente et al., 2018; Verde et al., 1987).

Tabla 4. 1.: Parámetros de dispersión y de centralización de la línea B a 0 horas para los caracteres estudiados.

Parámetros	Línea B				
	Media	Desviación típica	CV (%)	Mínimo	Máximo
PCR (µg/ml)	24.55	18.79	76.54	4.70	79.16
C3 (mg/ml)	0.51	0.35	68.63	0.01	1.20
Bilirrubina (mg/dl)	0.69	0.34	49.28	0.17	1.54
Triglicéridos (mg/dl)	0.56	0.16	28.57	0.31	1.02
Colesterol (mg/dl)	1.50	0.86	57.3	0.75	4.95

CV (%): Coeficiente de variación

Además, para detectar la presencia de datos anómalos, se realizaron diagramas de caja para cada uno de los caracteres estudiados para las dos líneas y los dos momentos estudiados, 0 horas y 72 horas después de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica. En las figuras 4.1 y 4.2 se muestran dos ejemplos de cajas con patillas.

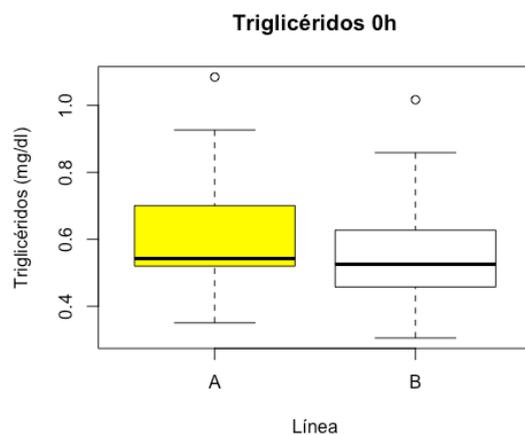


Figura 4. 1.: Caja con bigotes para el carácter concentración de triglicéridos en plasma a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B)

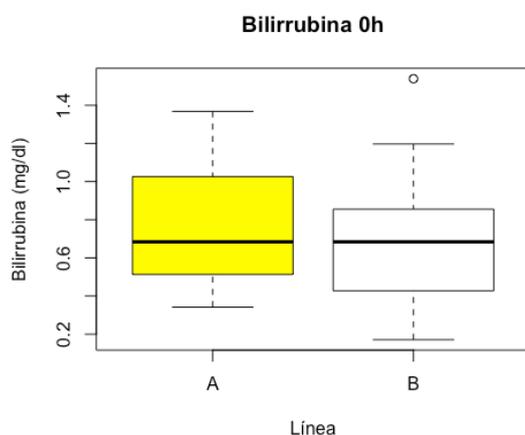


Figura 4. 2.: Caja con bigotes para el carácter concentración de bilirrubina en plasma a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B)

En las tablas 4.2. y 4.3. se muestran las diferencias entre las líneas A y B para los caracteres estudiados antes y después de la estimulación mediante la vacunación contra la enfermedad vírica hemorrágica. La vacunación puede ayudar en el estudio de la dinámica en la respuesta inflamatoria de los animales al inocular una dosis controlada del antígeno (Posthouwer et al., 2004). En este estudio se utilizó un tipo de vacuna inactiva contra la enfermedad vírica-hemorrágica. Para el aumento de la respuesta inmune, las vacunas inactivas incluyen adyuvantes que aumentan la producción de anticuerpos.

Tabla 4. 2.: Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre la línea A y la línea B para la concentración de la proteína C reactiva (PCR) y la proteína de complemento (C3)

	n_A	A	n_B	B	D_{A-B}	HPD _{95%}	P
C3 (mg/ml)							
Antes vacuna (0 horas)	19	0.55	21	0.51	0.05	[-0.14, 0.24]	0.68
Después vacuna (72 horas)	20	0.50	21	0.43	0.06	[-0.12, 0.24]	0.74
PCR (µg/ml)							
Antes vacuna (0 horas)	19	67.95	21	23.75	44.50	[17.32, 69.68]	1.00
Después vacuna (72 horas)	19	64.86	21	38.97	25.80	[-1.34, 49.36]	0.97

A: mediana de la línea Amarilla, **B:** mediana de la línea Blanca, **D_{A-B} :** diferencias entre las líneas Amarilla y Blanca, **HPD_{95%}:** región de alta densidad posterior al 95%, **P:** probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero si la diferencia es positiva y probabilidad de que la diferencia sea menor que cero si la diferencia es negativa, n_A : N° datos línea Amarilla, n_B : N° datos línea Blanca.

Tabla 4. 3.: Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre la línea A y la línea B para la concentración de la bilirrubina, triglicéridos y colesterol

	n_A	A	n_B	B	D_{A-B}	HPD _{95%}	P
Bilirrubina (mg/dl)							
Antes vacuna (0 horas)	20	0.76	20	0.71	0.06	[-0.14, 0.25]	0.73
Después vacuna (72 horas)	20	0.45	20	0.63	-0.17	[-0.36, 0.02]	0.96
Triglicéridos (mg/dl)							
Antes vacuna (0 horas)	19	0.61	20	0.56	0.05	[-0.07, 0.17]	0.79
Después vacuna (72 horas)	19	0.60	19	0.61	-0.01	[-0.14, 0.11]	0.59
Colesterol (mg/dl)							
Antes vacuna (0 horas)	20	1.36	19	1.32	0.03	[-0.20, 0.28]	0.62
Después vacuna (72 horas)	20	1.37	19	1.39	-0.01	[-0.23, 0.23]	0.54

A: mediana de la línea Amarilla, **B:** mediana de la línea Blanca, **D_{A-B} :** diferencias entre las líneas Amarilla y Blanca, **HPD_{95%}:** región de alta densidad posterior al 95%, **P:** probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero si la diferencia es positiva y probabilidad de que la diferencia sea menor que cero si la diferencia es negativa, n_A : N° datos línea Amarilla, n_B : N° datos línea Blanca.

En el caso de la PCR (tabla 4.2) se observa una mayor concentración basal en la línea A (+44.4998 µg/ml, P = 1.00), aunque después de la vacunación la respuesta de la línea B es más alta (+15.22 µg/ml). Para el complemento C3, no hay bastantes evidencias de que haya diferencias entre ambas líneas tanto a 0 horas (antes de la vacunación) como a 72 horas después de la vacunación (tabla 4.2). El nivel de PCR en sangre es considerado como un biomarcador del proceso inflamatorio. De acuerdo con Markandy (2015), estos niveles más altos de PCR en la línea A antes de la vacunación indicarían un mayor estrés crónico y una mayor sensibilidad a enfermedades y al estrés de la línea A respecto a la línea B. Sin embargo, después de la vacunación, es la línea B la que presenta una mayor respuesta que la A. En el estudio realizado por McDade et al., (2005) se

demuestra que una baja concentración basal de PCR inicial, junto a una gran respuesta por parte del individuo después de la estimulación por la vacunación, está relacionado con un buen funcionamiento del proceso inflamatorio. Por lo tanto, se concluye que la línea B presentaría una mayor resistencia a las enfermedades que la línea A.

Se sabe que, en los procesos de infección, generalmente disminuyen los niveles de colesterol y aumentan los niveles de triglicéridos y bilirrubina (Feingold y Grunfeld, 2015; Minemura et al., 2014). Antes de la vacunación no se encontraron diferencias en la bilirrubina entre las líneas A y B ($P=0.73$), pero la línea A obtuvo un nivel de bilirrubina más bajo después de la vacunación que la línea B ($-0.1745 \mu\text{mol / l}$, $P = 0,96$). Esta respuesta podría apoyar una mayor susceptibilidad a las enfermedades de la línea A frente a la línea B (Argente et al., 2019).

En el caso de los triglicéridos y el colesterol, los valores en ambas líneas fueron similares tanto antes como después de la vacunación, aunque en ambos parámetros, la respuesta después de la estimulación fue mayor en la línea B que en la línea A ($+0.056 \mu\text{mol / l}$, $P= 0.90$ para los triglicéridos; $+0.064 \mu\text{mol / l}$, $P= 0.81$ para el colesterol; datos no mostrados en la tabla 4.3).

En resumen, antes de la vacunación no se encontraron diferencias evidentes en los niveles de estos parámetros relacionados con el metabolismo del hígado y después de la vacunación la respuesta de la línea B fue mayor que la observada en la línea A. Por lo tanto, estos resultados sugerirían una mayor respuesta inflamatoria de la línea B que la encontrada en la línea A, que es una línea con menor longevidad que la B. Esta menor longevidad estaría relacionada con una menor capacidad de adaptación a factores estresantes como por ejemplo puede ser en este caso la vacunación contra una enfermedad.

Los resultados de estos indicadores de la resiliencia estarían de acuerdo con la mayor mortalidad de las reproductoras que presenta la línea A respecto a la línea B (52.2% en la línea A y 31.6% en la línea B; Otero, 2018) y la mayor mortalidad en el engorde en épocas de problemas sanitarios de la línea A en comparación con la línea B (un 20% más en la línea A que en la línea B; Otero, 2018). Otros resultados obtenidos por varios autores que han comparado la línea B con otras líneas seleccionadas en la granja de mejora de la UPV apoyan que esta línea es más longeva y robusta (Theilgaard et al., 2009; Saviotto et al., 2013). Esta menor sensibilidad a enfermedades de la línea B se explicaría por los criterios de fundación de la línea; la línea se creó aplicando una alta intensidad de selección con conejas muy longevas que habían producido más de 25 partos con una prolificidad media.

5. CONCLUSIONES

Antes de la vacunación, la línea A presenta una mayor concentración de proteína C-reactiva lo que indicaría que sufre un mayor estrés ambiental crónico que la línea B en las mismas condiciones ambientales.

Después de la vacunación, la línea A presenta para la mayoría de los caracteres estudiados una menor respuesta inmunológica que la línea B.

El conjunto de los resultados apoya la hipótesis de que la línea A es más sensible a enfermedades lo que estaría relacionado con una menor resiliencia de la línea A respecto a la línea B.

6. BIBLIOGRAFÍA

ARGENTE, M.J.; BLASCO, A.; GARCÍA, M.L.; AGEA, I. (2019). “Respuesta correlacionada a la selección por varianza ambiental del tamaño de camada sobre la condición corporal de la coneja” en *44 Symposium Cunicultura*. Aranda de Duero.

ARGENTE, M.J.; GARCÍA, M.L.; BLASCO, A. (2017). “Efecto de la selección por varianza residual del tamaño de camada sobre la sensibilidad a enfermedades y estrés” en *XVII Jornadas sobre Producción Animal*. Zaragoza, 453-455.

ARGENTE, M.J.; GARCÍA, M.L.; ZBYNOVŠÁ, K.; PETRUSKA, P.; CAPCAROVÁ, M.; BLASCO, A. (2018). “Correlated response to selection for litter size environmental variability in rabbits’ resilience” en *Internacional Journal of Animal Bioscience*.

BARCIA, A.M.; HARRIS, H.W. (2005). “Triglyceride-rich lipoproteins as agents of innate immunity” en *Oxford University Press*. Clinical Infectious Diseases, volume 41, issue supplement 7, páginas S498–S503. <https://doi.org/10.1086/432005>

BASELGA, M. (1995). “Actualidad e investigación en genética cunícola” en *Medicina Veterinaria*, 12:22-27.

BASELGA, M.; BLASCO, A.; ESTANY, I. (1984). “Incide de selection de caracteres reproductivos con información variable” en Proc. 3d World Rabbit Congress, Rome, Italy, April 4-8, Vol. 1:62-65.

BERGHOF T.V.L.; POPPE, M.; Mulder, H.A. (2019). Opportunities to Improve Resilience in Animal Breeding Programs. *Front. Genet.* 9, 1-7.

CACHOFEIRO, V. (2009). “Alteraciones del colesterol y enfermedad cardiovascular” en *Libro de la salud cardiovascular del hospital clínico San Carlos y la Fundación BBVA*. Editorial Nerea, S.A..Madrid, 131- 140 pp.

CARTUCHE, L.; PASUCAL, M; GÓMEZ, E.A.; BLASCO, A. (2014). “Economic wheights in rabbit meat production” en *World Rabbit Science*, 22:165-177.

ECKERSALL, P.D. (2000). “Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals” en *Revue de Médecine Vétérinaire*. 151, 577–584.

ESTANY, J.; BASELGA, M.; BLASCO, A.; CAMACHO, J. (1989). “Mixed model methodology for the estimation of genetic response to selection in litter size of rabbits” en *Livestock Production Science*, 21:67-76.

FEINGOLD, K.R. y GRUNFELD, C. (2015). “The effect of inflammation and infection on lipids and lipoproteins” en De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F and Vinik A. *Endotext*, South Dartmouth, MA, USA. Retrieved on 7 June 2018 from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326741/>.

- FERNÁNDEZ, E. N. (2016). “Estimación de efectos genéticos aditivos y no aditivos en líneas maternas de conejos”. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, España.
- HERMESCH, S. (2014). “Breeding disease resilient pigs” en *Breeding Focus 2014 - improving resilience* (ed. S Hermesch and S Dominik). Animal Genetics and Breeding Unit, University of New England, Armidale.
- KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M.S.; MEMON, R.A.; SHIGENAGA, J.K.; MOSER, A.H.; FEINGOLD, K.R.; GRUNFELD, C. (2019). “Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host” en *Journal of Lipid Research*. 45-2004.
- MCDADE, T.W.; BORJA, J.B.; KUZAWA, C.W.; PEREZ, T.L.; ADAIR, L.S. (2005). “C-reactive protein response to influenza vaccination as model of mild inflammatory stimulation in the Philippines” en *Vaccine* 33, 2004–2008.
- MINEMURA, M.; TAJIRI, K.; SHIMIZU, Y. (2014).” Liver involvement in systemic infection” en *World Journal of Hepatology* 6, 632–642.
- MÍNGUEZ, C. (2011) *Comparación de cuatro líneas de conejo en caracteres de crecimiento*. Trabajo de Fin de Máster (TFM). Valencia: Universidad Politècnica de Valencia.
- OTERO ESCRICH, N. (2018). *Sensibilidad a las condiciones sanitarias de tres líneas de conejos*. Trabajo de Fin de Máster (TFM). Valencia: Universidad Politècnica de Valencia.
- OTERO, W et al. (2009). “Papel protector de la bilirrubina en el ser humano” en *Revista Colombiana de Gastroenterología*. Volumen 24, número 3, 293 pp.
- POSTHOUWER, D.; VOORBIJ, H.A.; GROBBEE, D.E.; NUMANS, M.E.; VAN DER BOM, J.G. (2004). “Influenza and pneumococcal vaccination as a model to assess C-reactive protein response to mild inflammation” en *Vaccine* 23, 362–365.
- RAUW, W.M.; KANIS, E.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; GROMMERS, F. J. (1998). *Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review* en *Livest. Prod. Sci.* 56, 15–33. 10.1016/S0301-6226(98)00147-X.
- SÁNCHEZ, J. P.; THEILGAARD, P.; MÍNGUEZ, C.; BASELGA, M. (2008). “Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line” en *Journal of Animal Science*, 86:515-525.
- SAVIETTO, D.; CERVERA, C.; BLAS, E.; BASELGA, M.; LARSEN, T.; FRIGGENS, N.C.; PASCUAL, J.J. (2013). “Environmental sensitivity differs between rabbit lines selected for reproductive intensity and longevity” en *Cambridge University Press*, vol. 7, issue 12.
- THEILGAARD, P.; BASELGA, M.; BLAS, E.; FRIGGENS, N.; CERVERA, C.; PASCUAL, J. J. (2009). “Differences in productive robustness in rabbits selected for reproductive longevity or litter size” en *Animal*, 3:637-646.

VERDE, M.T.; GÓMEZ, J. (1987). “Parámetros sanguíneos de interés clínico en conejos normales” en *Boletín de Cunicultura*, Departamento de Patología Médica.