

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL
MEDI NATURAL



Determinación de las necesidades en
arginina en conejos de líneas
seleccionadas por velocidad de
crecimiento

Trabajo fin de Máster en Ingeniería Agronómica

Autora: Andrea Merí Martí

Tutor: Enrique Blas Ferrer

Cotutor: Eugenio Melchor Martínez Paredes

Curso académico: 2019-2020

Valencia, julio de 2020



Determinación de las necesidades en arginina en conejos de líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento

RESUMEN

A lo largo de los años, el conejo de carne se ha sometido a una mejora genética de sus características productivas a través de una selección constante, pudiendo provocarse con ello cambios en las necesidades nutritivas para ser más eficientes productivamente. La mayoría de los estudios sobre las necesidades de aminoácidos en conejos se realizaron hace más de 25 años. Por ello, teniendo en cuenta que las recomendaciones utilizadas por la industria de piensos podrían haber quedado obsoletas y no ser suficientes para optimizar el rendimiento de animales con gran potencial genético para el crecimiento, se hace necesario la revisión de las necesidades de arginina (una vez revisadas recientemente las de lisina, aminoácidos azufrados y treonina) en conejos de engorde con alta tasa de crecimiento. En el experimento se formularon y fabricaron 5 piensos experimentales isonutritivos, que solo diferían en su contenido en arginina (teóricamente, 0.50%, 0.75%, 1.00%, 1.25% y 1.50%). Se utilizaron un total de 123 gazapos destetados con 28 días de vida, pertenecientes a 3 distintas líneas paternas de alto potencial de crecimiento (R, RF y RLP). Se alojaron en jaulas individuales, teniendo pienso y agua ad libitum durante todo el experimento (28-63 días de vida). Durante el primer periodo del cebo (28-49 días), el pienso tuvo un efecto significativo sobre la ingestión de pienso y la ganancia media diaria (GMD). Los animales alimentados con piensos con un contenido de arginina entre 7.4 y 10.4 g/kg mostraron una mayor ingestión de pienso y GMD que los alimentados con el pienso con un contenido de arginina del 5.6 g/kg (+10.2% y +13.2% respectivamente), mostrando valores intermedios con el pienso de 13.4 g/kg. Con respecto a la genética, los animales de la línea RF presentaron menor ingestión de pienso y menor GMD que las otras dos líneas tanto en el primer periodo del cebo (-8.1% y -10.8%, respectivamente) como en el total del cebo (-8.0% y -8.2%, respectivamente), sin consecuencias en el índice de conversión, que en el total del cebo fue de 2.26 g MS/g.

Palabras clave: arginina, línea genética, crecimiento, conejos.

Alumna: Andrea Merí Martí

Tutor académico: Enrique Blas Ferrer

Cotutor: Eugenio Melchor Martínez Paredez

Valencia, Julio de 2020

Determination of arginine requirements in rabbits of selected lines by growth rate

ABSTRACT

Over the years, the meat rabbit has undergone a genetic improvement of its productive characteristics through constant selection, thus causing changes in nutritional requirements to be more efficient. Most of the studies on amino acid requirements in rabbits were done more than 25 years ago. Therefore, considering that the recommendations used by the feed industry may have become obsolete and not sufficient to optimize the performance of animals with great genetic potential for growth, it is necessary to review the requirements of arginine (once recently reviewed those of lysine, sulfur amino acids and threonine) in fattening rabbits with high growth rate. In the experiment, 5 isonutritive experimental diets were formulated and manufactured, which only differed in their arginine content (theoretically 0.50%, 0.75%, 1.00%, 1.25% and 1.50%). A total of 123 weaned rabbits with 28 days of age, belonging to 3 different paternal lines with high growth potential (R, RF and RLP) were used. They were housed in individual cages, having feed and water ad libitum throughout the experiment (28-63 days old). During the first period of fattening (28-49 days old), diet had a significant effect on feed intake and average daily gain (ADG). Animals fed with diets with an arginine content between 7.4 and 10.4 g/kg showed a higher feed intake and ADG than those fed with the diet with an arginine content of 5.6 g/kg (+10.2% and +13.2% respectively), showing intermediate values with the diet of 13.4 g/kg. Regarding genetics, the animals of the RF line presented lower feed intake and lower ADG than the other two lines both in the first period of fattening (-8.1% and -10.8%, respectively) and in the overall fattening (-8.0 % and -8.2%, respectively), without consequences in the conversion rate, which was 2.26 g DM/g in the overall fattening.

Key words: arginine, genetic line, growth, rabbits.

Student: Andrea Merí Martí

Academic tutor: Enrique Blas Ferrer

Cotutor: Eugenio Melchor Martínez Paredez

Valencia, July 2020

Agradecer a mi familia y amigos su apoyo y animarme en este proyecto.

También agradecer, a mis tutores, Enrique y Eugenio, por su dedicación, su apoyo y por darme la oportunidad de participar en este trabajo mejorando mi formación, tanto académica como profesionalmente.

Y agradecer a los técnicos de laboratorio y de granja Caty y Luis por toda su ayuda.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	OBJETIVOS	4
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	4
3.1.	DIETAS EXPERIMENTALES	4
3.2.	ANIMALES Y MANEJO EXPERIMENTAL	7
3.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	8
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
5.	CONCLUSIÓN	12
6.	BIBLIOGRAFIA	12

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.	ESQUEMA DEL CRUCE A TRES VÍAS EN PRODUCCIÓN CUNÍCOLA	1
FIGURA 2.	CONEJO DE LA LÍNEA R	2
FIGURA 3.	CONEJO DE LA LÍNEA LP	3
FIGURA 4.	INSTALACIÓN DE LA NAVE DE ENGORDE.	7
FIGURA 5.	EFFECTO CUADRÁTICO DEL CONTENIDO DIETARIO EN ARGININA SOBRE LA INGESTIÓN DE PIENSO [A]: DE 28 A 49 DÍAS; C) DE 28 A 63 DÍAS] Y LA GANANCIA DE PESO [B]: DE 28 A 49 DÍAS; D) DE 28 A 63 DÍAS].	11

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	INGREDIENTES (%) Y COMPOSICIÓN (G/KG) TEÓRICA DE LA MEZCLA BASAL.	5
TABLA 2.	INGREDIENTES (%) DE LOS PIENSOS EXPERIMENTALES.	6
TABLA 3.	COMPOSICIÓN QUÍMICA ANALIZADA DE LOS PIENSOS EXPERIMENTALES (G/KG).	6
TABLA 4.	EFFECTO DEL PIENSO Y LA GENÉTICA SOBRE EL ESTADO SANITARIO DE LOS CONEJOS EN EL CEBO (28-63D).	8
TABLA 5.	EFFECTO DEL PIENSO Y LA GENÉTICA SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO DE LOS CONEJOS EN EL CEBO.	10

1. INTRODUCCIÓN

La carne de conejo posee un elevado valor nutricional y una gran importancia en la dieta mediterránea. La producción de carne de conejo se basa actualmente en un cruce a 3 vías con líneas especializadas (Figura 1; Baselga y Blasco, 1998). En los núcleos de selección, como en el de la Universitat Politècnica de València (UPV), se selecciona a los padres por los caracteres de mayor peso económico (Cartuche et al., 2014). El objetivo es conseguir un alto crecimiento y bajo índice de transformación de pienso en “carne” (kg pienso consumido/kg de peso vivo obtenido) en el producto final, es decir, básicamente, que la granja comercial produzca la mayor cantidad de carne al menor coste posible.

Primero se cruzan animales procedentes de dos líneas de aptitud maternal, seleccionadas por prolificidad, para obtener hembras cruzadas (F1). Las hembras cruzadas presentan heterosis en los rasgos reproductivos, lo que conduce a mayores tamaños de camada al destete que las hembras “puras”. Además, presentan menor riesgo de eliminación por enfermedades o baja fertilidad. Estas hembras son utilizadas en granjas de producción como madres y se inseminan o montan con machos de una línea paterna, seleccionada por ganancia media diaria (GMD). El producto final son los gazapos que son enviados al matadero después de un periodo de engorde hasta alcanzar un peso comercial de alrededor de 2 kg.

Por todo ello, es esencial la realización de programas de mejora, tanto de las líneas maternas seleccionadas para aumentar el tamaño de camada como de las paternas seleccionadas por GMD (Baselga, 2004).

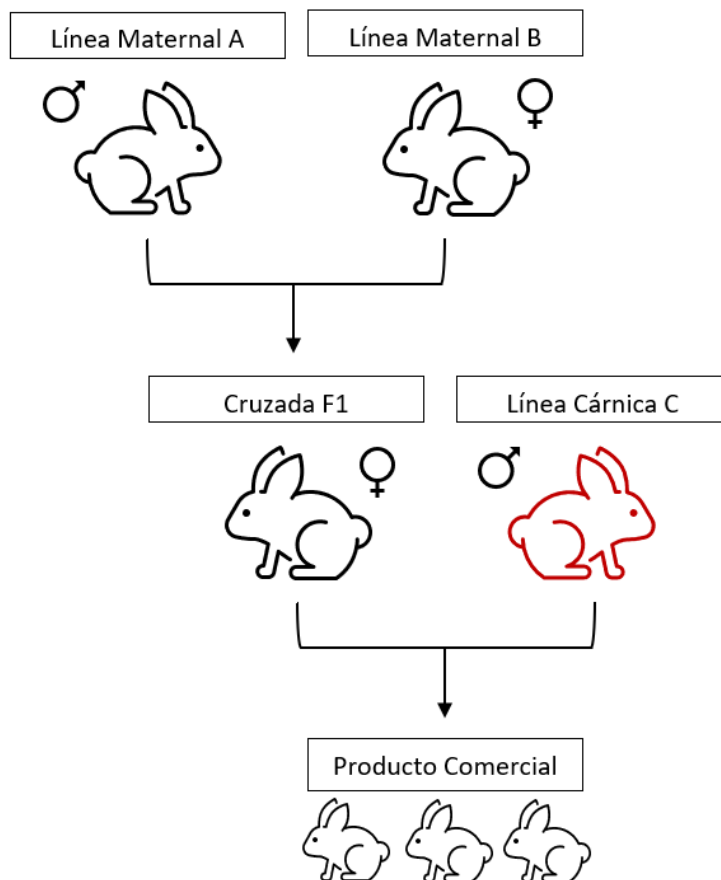


Figura 1. Esquema del cruce a tres vías en producción cunícola.

El trabajo de la UPV en el desarrollo de líneas sintéticas comerciales comenzó en 1976, con la idea de ofrecer al sector cunícola líneas genéticas que fuesen competitivas internacionalmente. Actualmente, la UPV cuenta con 4 líneas maternas, con el objetivo principal de mejorar el tamaño de camada al destete: A (línea amarilla), V (línea verde), H (línea hiperprolífica y LP (línea longevo-productiva); y una línea paterna R (línea rosa), seleccionada por GMD. Hasta ahora, las líneas sintéticas comerciales de la UPV han alcanzado la generación 48 en la línea A, 44 en la línea V, 25 en la línea H y 14 en la línea LP, así como la generación 39 en línea R. Desde su fundación, todas estas líneas se han mantenido cerradas en el mismo núcleo de selección, sometidas al mismo programa de selección y gestión (Ragab et al., 2015).

La línea R (Figura 2) procede del cruce de dos líneas paternas, una fundada en 1976 con conejos de California criados por agricultores valencianos y otra fundada en 1981 con conejos de líneas paternas especializadas (Estany et al., 1992). El método de selección se basa en una selección individual sobre la GMD durante el engorde, desde los 28 a los 63 días de edad. A pesar de ser una línea apreciada por los cunicultores, en las últimas generaciones presenta mal rendimiento reproductivo y un estancamiento de la mejora del crecimiento. Las hembras tienen problemas de ovulación debido a la baja concentración de LH que podría estar relacionada con el alto peso corporal y la concentración de leptina. Además, muestran una baja tasa de implantación, altas pérdidas fetales y perinatales (Vicente et al., 2012, 2013). Este problema provoca que haya menos animales para su selección, con la consecuente caída de la presión de selección y una desaceleración en el proceso de mejora genética. Como consecuencia, la GMD no se ha mejorado en las últimas generaciones (Pascual et al., 2015; Juárez et al., 2017).

También se ha observado que las hembras R tienen un patrón de asignación de recursos diferente que las hembras de las líneas maternas, mejorando su esfuerzo en la lactancia tardía (Arnau-Bonachera et al., 2018a), que parece estar detrás de su deterioro reproductivo (Arnau-Bonachera et al., 2018b). Y, además, esta línea mostró también un mayor estrés inmunológico en comparación con las líneas maternas, caracterizado por la mayor proporción de granulocitos/linfocitos (Penadés et al., 2018). De hecho, los gazapos de la línea R tenían menor recuento de leucocitos en la sangre al destete y mayor mortalidad durante el período de engorde que los pertenecientes a líneas maternas cuando se alimentan con pienso sin medicar (García-Quirós et al., 2014), aumentando la dependencia de la producción de conejos del uso de antibióticos.



Figura 2. Conejo de la línea R. Fuente: El Adil, 2020

Por todo ello, una primera estrategia para mejorar una de las líneas más importantes para la producción ha sido mejorar su sostenibilidad y competitividad a través de una refundación de la línea R, para constituir la línea RF.

Sin embargo, una segunda estrategia, con el fin de encontrar una nueva línea paterna que tuviera en cuenta las demandas actuales del sector para una producción de conejo

sostenible y eficiente, ha sido la fijación de excelentes características reproductivas y de crecimiento disponibles en las poblaciones de la línea R sobre una población de hembras de otra línea (mediante retrocruzamiento), con el objetivo no sólo de resolver los problemas relacionados con el rendimiento reproductivo, sino también para reducir la dependencia del uso de antibióticos en esta producción animal. La línea LP (Figura 3), fundada en 2003 con criterios de reproducción y longevidad, es la línea ideal para esta situación debido a que es una línea maternal que tiene como principal característica su gran resiliencia. Se seleccionaron animales que fueron capaces de realizar más de 25 partos con un buen nivel reproductivo, obteniendo una concentración de material genético con gran flexibilidad para gestionar los recursos disponibles y permanecer en el rebaño (Savietto et al., 2015). Todo ello, permite a las hembras LP mantener un alto nivel reproductivo (Theilgaard et al., 2009), un buen peso de la camada en el destete (García-Quirós et al., 2014; Arnau-Bonachera et al., 2018a) y una mejor capacidad para hacer frente a los desafíos inmunológicos (Ferrián et al., 2012; 2013). De esta forma, mediante tres retrocruzamientos, se constituyó la línea RLP.



Figura 3. Conejo de la línea LP. Fuente: El Adil, 2020

Por otra parte, desde el punto de vista de la nutrición, se hace necesario el aporte de dietas que cubran correctamente todas las necesidades nutricionales requeridas por los animales en el cebo, para que expresen todo su potencial genético de crecimiento. Por ello, es necesario una correcta elección de la dieta que se les debe suministra durante este periodo.

Uno de los nutrientes más importante para el desarrollo de los animales son las proteínas. Se trata de macromoléculas formadas por una o más cadenas de aminoácidos (Creighton, 1992). Existen dos tipos de aminoácidos (Neurath y Hill, 1982), aquéllos que el animal puede sintetizar (no esenciales) y aquéllos que el animal no puede sintetizar por sí mismo (esenciales). En principio solo pueden ser limitantes los aminoácidos esenciales, debido a un aporte insuficiente en la dieta (D'Mello, 2003a). Los aminoácidos limitantes más frecuentes para aves de corral, cerdos y conejos son la lisina, los aminoácidos azufrados (metionina y cistina) y la treonina (De Blas y González-Mateos, 2010; Bonato et al., 2015; Van Milgen y Dourmad, 2015). Sin embargo, otros aminoácidos también son esenciales para el crecimiento de los animales (Gaman y Fisher, 1970; Adamson y Fisher, 1976), como es el caso de la arginina, para la que se recomienda una concentración en la dieta de los conejos del 1% (McWard et al., 1967; Colin, 1975). Desde un punto de vista nutricional la falta de un aminoácido esencial provoca la misma consecuencia que la falta de una proteína completa, por ello, los conejos de cebo necesitan un aporte de proteína en la cantidad y con la calidad adecuada. Por otro lado, un exceso de proteína puede provocar problemas como una menor ingestión de pienso o la aparición de trastornos digestivos asociados a un exceso de flujo de nitrógeno ileal no aprovechado por el animal y que altera la microbiota cecal (De Blas y González-Mateos, 2010).

Las necesidades de aminoácidos en la producción de conejos han sido proporcionadas por diferentes autores, recopiladas inicialmente por Lebas (1989) y actualizadas y completadas

en el capítulo de "Formulación de piensos" (De Blas y González-Mateos, 2010) del libro "Nutrición del conejo". La mayoría de los estudios sobre las necesidades de aminoácidos en conejos se realizaron hace más de 25 años.

No obstante, existen evidencias de que las necesidades de aminoácidos en animales con diferentes tasas de crecimiento podrían ser diferentes, en base al crecimiento de los distintos tejidos, el crecimiento intestinal y el mantenimiento de la funcionalidad de la mucosa, tanto en otras especies (Armero et al., 1999) como en conejos (Carabaño et al., 2009), siendo previsible que haya diferencias en la relación entre las necesidades de mantenimiento y las de crecimiento. De esta manera, se ha de tener en cuenta que las recomendaciones actuales sobre el contenido dietario en aminoácidos esenciales podrían estar limitando la expresión del potencial genético de los conejos con alta tasa de crecimiento.

Las necesidades de los 3 aminoácidos esenciales más importantes (lisina, aminoácidos azufrados y treonina) se han actualizado recientemente (Marín-García, 2019). Sin embargo, no se han revisado aún las necesidades de arginina. Se ha observado que una suplementación de arginina en la dieta aporta mejoras en el crecimiento en lechones (de 0.2 a 0.4% de arginina) y en el tamaño de la camada en cerdas (de 0.4 a 1% de arginina) (Ramaekers et al., 2006; Li, 2011). En conejos, un aporte adicional del 0.4% de arginina no mejora el crecimiento en los animales de cebo (Delgado et al., 2019), pero aumenta el tamaño de la camada (Delgado et al., 2017). El efecto de la suplementación con arginina en la retención de nitrógeno ha sido poco estudiado en conejos, pero Colin (1975) observó que el coeficiente de retención de nitrógeno in vivo mejoró hasta un 1% (en base a materia seca).

2. OBJETIVOS

Partiendo de la hipótesis de que las recomendaciones que sigue habitualmente la industria de piensos podrían haber quedado obsoletas y no ser suficientes para optimizar el rendimiento de animales con gran potencial genético para el crecimiento, el presente trabajo tiene por objeto revisar las necesidades de uno de los aminoácidos esenciales, la arginina, en conejos de engorde pertenecientes a tres líneas paternas seleccionadas por velocidad de crecimiento (R, RF y RLP).

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DIETAS EXPERIMENTALES

En el presente trabajo se formularon y fabricaron 5 piensos experimentales isonutritivos, con los niveles de lisina, aminoácidos azufrados y treonina revisados recientemente (Marín-García, 2019), que solo diferían en su contenido en arginina. Se realizó una mezcla basal común para los 5 piensos, que incluía L-arginina industrial hasta alcanzar un contenido de arginina de 0.50%, calculado a partir del análisis de una micromezcla constituida por las materias primas que aportan arginina (cebada, gluten meal, salvado de trigo, heno de alfalfa, pulpa de remolacha y concentrado fibroso) en las proporciones indicadas y la proporción de L-arginina industrial incluida. Los ingredientes y la composición química teórica de esta mezcla basal se muestran en la Tabla 1. A esta mezcla basal (P1) se añadió L-arginina industrial en diferentes proporciones hasta obtener teóricamente 0.75%, 1.00%, 1.25% y 1.50% del aminoácido para P2, P3, P4 y P5 respectivamente (Tabla 2).

Tabla 1. Ingredientes (%) y composición (g/kg) teórica de la mezcla basal.

Ingredientes	(%)
Cebada	19.5
Gluten meal	9.0
Salvado de trigo	17.4
Heno de alfalfa	35.0
Pulpa de remolacha	11.7
Concentrado fibroso (Arboce [®])	3.0
Aceite de soja	1.0
L-Lisina CIH (78% lisina)	0.541
DL-Metionina (99% metionina)	0.216
L-Treonina (98% treonina)	0.177
L-Triptófano (99% triptófano)	0.100
L-Histidina (99% histidina)	0.107
L-Arginina (98% arginina)	0.036
Carbonato cálcico	0.073
Fosfato bicálcico	1.326
Cloruro sódico	0.404
Corrector de vitaminas y oligoelementos (L-310-R, Trouw) ^a	0.500
Composición química teórica	g/kg
Materia seca ^b	902
Energía digestible (MJ/kg) ^b	10.0
Proteína bruta ^b	169
Proteína digestible ^b	120
Lisina ^c	8.40
Metionina ^c	4.16
Cistina ^c	2.64
Metionina+Cistina ^c	6.80
Treonina ^c	6.02
Triptófano ^c	2.30
Isoleucina ^c	5.30
Valina ^c	6.60
Histidina ^c	3.36
Arginina ^c	5.00
FND ^b	332
FAD ^b	197
LAD ^b	47
Almidón ^b	151
EE ^b	27.9

^a Suministrado por kg de pienso: Vitamina A: 8.375 IU; Vitamina D3: 750 IU; Vitamina E: 20 mg; Vitamina K3: 1 mg; Vitamina B1: 1 mg; Vitamina B2: 2 mg; Vitamina B6: 1 mg; Ácido nicotínico: 20 mg; Cloruro de colina: 250 mg; Magnesio: 290 mg; Manganeso: 20 mg; Zinc: 60 mg; Yodo: 1.25 mg; Hierro: 26 mg; Cobre: 10 mg; Cobalto: 0.7; Mezcla de butilhidroxilanilola y etoxiquinina: 4 mg; Diclazuril: 1 mg.

^b Calculados según FEDNA (2019).

^c Calculados a partir del análisis de una micromezcla (5 kg) proporcional de las materias primas (cebada, gluten meal, salvado trigo, heno alfalfa, pulpa remolacha, concentrado fibroso y aceite de soja) y de la proporción y riqueza de los aminoácidos industriales añadidos

Tabla 2. Ingredientes (%) de los piensos experimentales.

<i>Ingredientes</i>	P1	P2	P3	P4	P5
Mezcla basal	100.00	99.75	99.50	99.25	99.00
L-Arginina (98% arginina)	0.00	0.25	0.50	0.75	1.00

Se recogieron muestras de los piensos y se analizaron siguiendo los procedimientos de AOAC (2002) para determinar materia seca (MS; 934.01) y proteína bruta (990.03). El contenido de aminoácidos se determinó tras hidrólisis ácida con HCL 6N a 110 °C durante 23 h, según Bosch et al. (2006), utilizando un sistema de HPLC Waters (Milford, Massachusetts, EE. UU.), que consta de dos bombas (Mod. 515, Waters), un inyector automático (Mod. 717, Waters), un detector de fluorescencia (Mod. 474, Waters) y un módulo de control de temperatura. Después se añadió ácido aminobutírico como patrón interno. Los aminoácidos se derivatizaron con AQC (6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato) y se separaron con una columna de fase inversa C-18 Waters AcQ Tag (150 mm x 3.9 mm). La metionina y la cistina se determinaron por separado como metionina sulfona y ácido cisteico, respectivamente, después de la oxidación con ácido per fórmico seguida de hidrólisis ácida (Alagón et al., 2016). Además, también se determinó la fibra neutro detergente (FND), la fibra ácido detergente (FAD) y la lignina ácido detergente (LAD) de forma secuencial según Van Soest et al. (1991), efectuando un pretratamiento con α -amilasa termostable y utilizando un sistema de bolsitas de nylon (Ankom, Macedon, New York, EE.UU). La Tabla 3 recoge la composición de los piensos experimentales.

Tabla 3. Composición química analizada de los piensos experimentales (g/kg).

<i>Ingredientes</i>	P1	P2	P3	P4	P5
Materia seca	896	902	901	892	895
Cenizas	68.0	64.5	67.3	62.4	67.1
Proteína bruta	162	163	168	167	176
Lisina	8.9	8.4	9.1	8.7	8.9
Metionina	5.6	5.9	5.8	5.9	6.2
Cistina	3.6	4.3	3.1	3.9	3.2
Metionina+Cistina	9.2	10.2	8.9	9.8	9.4
Treonina	5.7	5.6	5.7	5.4	5.6
Isoleucina	4.7	4.6	4.6	4.5	4.5
Valina	7.0	6.9	7.0	6.9	6.8
Histidina	3.2	3.5	3.7	3.3	3.2
Arginina	5.6	7.4	9.8	10.4	13.4
Ácido aspártico	12.8	12.4	12.4	13.3	12.6
Serina	6.1	6.5	6.7	6.4	6.1
Ácido glutámico	27.9	26.9	26.8	25.5	26.3
Glicina	5.3	5.1	4.7	4.6	4.8
Alanina	7.7	7.6	7.8	7.5	7.5
Prolina	8.7	8.6	8.7	8.4	8.3
Tirosina	3.5	3.5	3.8	3.6	3.6
Leucina	13.0	12.9	13.2	12.8	12.7
Fenilalanina	6.5	6.2	6.2	6.1	6.1
FND	330	331	327	326	334
FAD	178	180	177	175	180
LAD	22.8	23.9	22.8	22.0	22.7

3.2. ANIMALES Y MANEJO EXPERIMENTAL

Este Trabajo Final de Máster se enmarca en el proyecto “Mejora genética del conejo de carne: nuevas estrategias para mejorar la respuesta genética, la eficiencia alimentaria, reproducción y salud de líneas paternas”, financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2017-85162-C2-1-R-AR). Los procedimientos experimentales se llevaron a cabo bajo las normas sobre el uso de animales de experimentación (Real Decreto 53/2013) y fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación de la Universitat Politècnica de València y autorizados por la Dirección General de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural de la Generalitat Valenciana (2018/VSC/PEA/0116).

El experimento tuvo lugar entre enero y marzo de 2020, en la granja de Alimentación Animal de la UPV, que consta de una nave de maternidad y una de engorde. La nave de engorde (Figura 4) dispone de iluminación artificial durante 12 horas al día, activándose automáticamente entre las 6h y las 18h. También posee ventilación forzada lateral.

En el trabajo se utilizaron un total de 123 gazapos destetados con 28 días de vida, pertenecientes a 3 distintas líneas paternas de alto potencial de crecimiento, las líneas R, RF y RLP. La línea R es la línea paternal seleccionada por velocidad de crecimiento en la Universitat Politècnica de València durante 36 generaciones, pero su rendimiento reproductivo es bajo y, además, muestra una mayor sensibilidad a desafíos ambientales. Para mejorar esta línea se han fundado dos nuevas líneas genéticas: a) la línea RF, a partir de la selección de animales “élite” de la línea R, mediante una alta intensidad de selección en un modelo de núcleo abierto (es decir, utilizando animales procedentes de diferentes núcleos de selección) y b) la línea RLP, a partir de la fijación de la línea R sobre la línea robusta LP con el objeto de aumentar su resiliencia.

Los gazapos procedían de conejas alojadas en la nave de maternidad contigua y los gazapos de una misma camada fueron distribuidos de manera aleatoria entre los 5 tratamientos dietarios. Los gazapos se alojaron en jaulas individuales en las que se alternaban los tratamientos (del pienso 1 al 5 consecutivamente). Estas jaulas estaban dotadas de comedero tipo tolva y bebedero automático tipo cazoleta, de forma que los animales dispusieron ad libitum tanto del pienso asignado como del agua durante todo el experimento. Diariamente se controlaba el estado sanitario de los animales (mortalidad y morbilidad) y semanalmente el peso vivo y la ingestión de pienso, hasta el final del periodo de experimentación (63 días de vida).



Figura 4. Instalación de la nave de engorde.

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de parámetros de crecimiento (ingestión de pienso, GMD e índice de conversión, calculado como el cociente entre la ingestión de pienso y la GMD) se analizaron mediante el procedimiento GML del programa estadístico SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 2009), según un modelo en el que se consideraron como efectos fijos el tipo de pienso (P1, P2, P3, P4 o P5), el tipo de genética (R, RF o RLP) y su interacción. Además, también se incluyó la camada como factor de bloqueo. Se realizaron contrastes ortogonales para estimar el efecto lineal y el efecto cuadrático del nivel dietario de arginina sobre estos parámetros.

Los datos relativos al estado sanitario (mortalidad, morbilidad e índice de riesgo sanitario, es decir mortalidad + morbilidad) fueron analizados mediante el procedimiento GENMOD del programa estadístico SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 2009), según un modelo de regresión logística con el tipo de pienso (P1, P2, P3, P4 o P5) y el tipo de genética (R, RF o RLP) como efectos fijos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, la mortalidad, la morbilidad y el índice de riesgo sanitario fueron muy elevados, con valores medios del 30.1%, 6.5% y 36.6% respectivamente, como consecuencia de un brote de Enteropatía Epizootica del Conejo. En la producción cunícola, lo más común es que la mortalidad durante el cebo esté entre el 5% y el 10%. El experimento no fue dimensionado para estudiar el efecto del contenido en arginina sobre el estado sanitario de los conejos durante su periodo de cebo, lo que hubiera requerido utilizar bastantes más animales. Además, la emergencia sanitaria (Covid-19) entre marzo y junio de 2020 dio lugar a que sólo se pudiera controlar una de las 3 tandas de animales que se había previsto, por lo que finalmente sólo se utilizaron 123 animales. En consecuencia, aunque las diferencias observadas entre piensos y, sobre todo, entre las líneas genéticas fueron notables, no se alcanzó la significación estadística (Tabla 4). No obstante, tanto la mortalidad como el índice de riesgo sanitario fueron sensiblemente menores en los conejos RLP que en los conejos de las otras dos líneas genéticas (del orden de la mitad o incluso menos), lo que podría deberse a que el retrocruce de la línea R con la LP es más robusto, es decir, con más resiliencia o capacidad para superar condiciones ambientales adversas. De hecho, algunos estudios han demostrado que la línea LP tiene más capacidad para hacer frente a los desafíos inmunológicos (Ferrián et al., 2012; 2013).

Tabla 4. Efecto del pienso y la genética sobre el estado sanitario de los conejos en el cebo (28-63d).

	Pienso					Genética			P-valor	
	P1 (n=25)	P2 (n=25)	P3 (n=25)	P4 (n=24)	P5 (n=24)	R (n=48)	RF (n=49)	RLP (n=26)	Pienso	Genética
Mort ¹ (%)	24.0	28.0	44.0	29.2	25.0	29.2	38.8	15.4	0.501	0.080
Morb ² (%)	8.0	8.0	0.0	8.3	8.3	12.5	2.0	3.8	0.446	0.095
IRS ³ (%)	32.0	36.0	44.0	37.5	33.3	41.7	40.8	19.2	0.891	0.090

¹ Mortalidad.

² Morbilidad.

³ Índice de Riesgo Sanitario (suma de mortalidad y morbilidad).

Para poder observar el efecto del pienso y la genética sobre los parámetros de crecimiento de los conejos en el cebo, se analizaron los valores de los animales que llegaron vivos y sanos a los 63 días de vida (fin del cebo), un total de 78 animales. El análisis se dividió en 3 periodos: un primer periodo entre los 28 y los 49 días de vida, un segundo periodo entre los 49 y 63 días de vida, y el periodo total (28 – 63 días).

La Tabla 5 muestra el efecto del pienso y la genética sobre el rendimiento productivo durante el cebo de los conejos. La interacción entre estos efectos nunca resultó estadísticamente significativa.

El pienso tuvo un efecto significativo tanto sobre la ingestión de pienso como sobre la GMD durante el primer periodo. Los animales alimentados con P2, P3 y P4 mostraron una mayor ingestión que los alimentados con P1 (+10.2%), mostrando valores intermedios con P5. Como consecuencia, la GMD fue mayor con P2, P3 y P4 que con P1 (+13.2%), con valores intermedios para P5. De esta forma, resultó que el pienso no tuvo efecto significativo sobre el índice de conversión en este periodo.

Durante el segundo periodo, el pienso no tuvo efecto significativo sobre ninguno de los tres parámetros controlados, siendo los valores medios de 166 g MS/d, 60.0 g/d y 2.78 g MS/g, respectivamente para la ingestión de pienso, la GMD y el índice de conversión. Lógicamente, los resultados en el total del cebo integran lo ocurrido en ambos periodos, de forma que el efecto del pienso no fue muy distinto al observado en el primer periodo, pero ya no alcanzó el nivel de significación estadística.

En la Figura 5 se muestra el efecto cuadrático del contenido dietario en arginina sobre la ingestión de pienso y la GMD tanto durante el primer periodo del cebo como en el total del cebo. Se observa que: i) un contenido de 5.6 g/kg deteriora notablemente el rendimiento productivo de los gazapos, ii) el contenido que parece optimizar el rendimiento productivo de los gazapos se sitúa en torno a 10.0 g/kg y iii) un contenido superior, de 13.4 g/kg parece tener consecuencias negativas sobre el rendimiento productivo de los gazapos. Todo ello, confirmaría que las recomendaciones habitualmente seguidas hasta ahora (1%) de McWard et al. (1967) y Colin (1975) son adecuadas. Un exceso podría producir efectos negativos. De hecho, Forbes (1995) señaló que la ingestión voluntaria de alimento se reduce en dietas de muy baja proteína, así como por desequilibrio, deficiencia o exceso de aminoácidos esenciales. Por otro lado, D'Mello (2003b) señala la existencia de antagonismo recíproco entre arginina y lisina, de forma que el exceso de arginina puede producir efectos adversos en aves y cerdos. No obstante, Delgado et al. (2019) no observaron efectos negativos sobre el rendimiento de conejos de cebo al aumentar el contenido en arginina del pienso de 10.1 a 13.7 g/kg.

Con respecto a la genética, en la Tabla 5 observamos que los animales de la línea RF presentaron menor ingestión de pienso y menor GMD que las otras dos líneas (R y RLP) tanto en el primer periodo (-8.1% y -10.8%) como en el segundo (-8.8% y -4.7%; esta última diferencia no alcanzó el nivel de significación estadística) y por tanto en el total del cebo (-8.0% y -8.2%), sin consecuencias en el índice de conversión, que en el total del cebo fue de 2.26 g MS/g.

Tabla 5. Efecto del pienso y la genética sobre el rendimiento productivo de los conejos en el cebo.

	Pienso					Genética			P-valor			
	P1 (n=17)	P2 (n=16)	P3 (n=14)	P4 (n=15)	P5 (n=16)	R (n=28)	RF (n=29)	RLP (n=21)	Pienso	Genética	Efecto lineal Pienso	Efecto cuadrático Pienso
Periodo 28-49d												
Ingestión de pienso (g MS/d)	86.9 ^a (2.42)	95.5 ^b (2.70)	94.7 ^b (2.82)	97.2 ^b (2.56)	90.4 ^{ab} (2.66)	96.7 ^b (2.06)	87.8 ^a (1.94)	94.3 ^b (2.30)	0.029	0.009	0.296	0.006
Ganancia de peso (g/d)	45.8 ^a (1.37)	51.3 ^b (1.52)	51.8 ^b (1.59)	52.5 ^b (1.44)	48.7 ^{ab} (1.50)	52.2 ^b (1.16)	46.3 ^a (1.09)	51.6 ^b (1.30)	0.008	0.001	0.139	0.001
IC ¹ (g MS/g)	1.90 (0.036)	1.87 (0.040)	1.82 (0.042)	1.86 (0.038)	1.87 (0.039)	1.85 (0.030)	1.91 (0.029)	1.83 (0.034)	0.718	0.142	0.622	0.280
Periodo 49-63d												
Ingestión de pienso (g MS/d)	163 (4.8)	165 (5.3)	170 (5.6)	171 (5.0)	162 (5.2)	175 ^b (4.0)	156 ^a (3.8)	167 ^b (4.5)	0.576	0.008	0.755	0.162
Ganancia de peso (g/d)	60.2 (1.87)	58.9 (2.08)	59.3 (2.18)	61.6 (1.97)	60.0 (2.05)	61.9 (1.59)	58.1 (1.49)	60.0 (1.77)	0.901	0.263	0.716	0.878
IC ¹ (g MS/g)	2.71 (0.063)	2.80 (0.071)	2.88 (0.074)	2.79 (0.067)	2.72 (0.070)	2.84 (0.054)	2.70 (0.051)	2.79 (0.060)	0.441	0.202	0.982	0.062
Periodo 28-63d												
Ingestión de pienso (g MS/d)	117 (3.0)	121 (3.3)	124 (3.5)	127 (3.1)	119 (3.3)	128 ^b (2.5)	115 ^a (2.4)	122 ^{ab} (2.8)	0.127	0.003	0.255	0.038
Ganancia de peso (g/d)	51.6 (1.21)	54.4 (1.35)	54.8 (1.41)	56.1 (1.27)	53.2 (1.33)	56.1 ^b (1.02)	51.0 ^a (0.96)	55.0 ^b (1.15)	0.112	0.002	0.218	0.032
IC ¹ (g MS/g)	2.26 (0.041)	2.23 (0.046)	2.27 (0.047)	2.26 (0.043)	2.25 (0.045)	2.29 (0.035)	2.26 (0.033)	2.23 (0.039)	0.981	0.544	0.967	0.905

¹ Índice de conversión.

^{a,b} Valores con superíndice diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

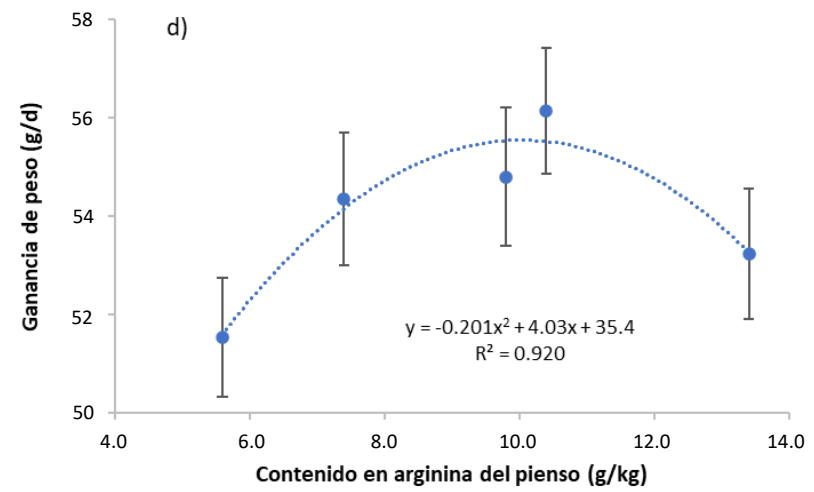
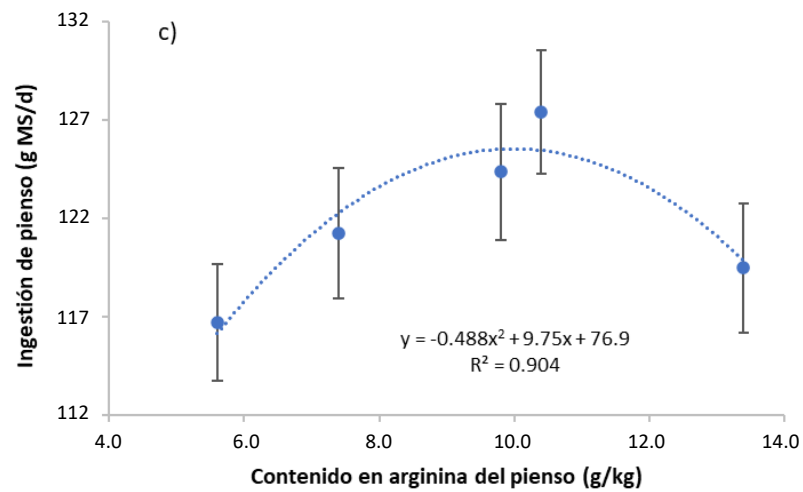
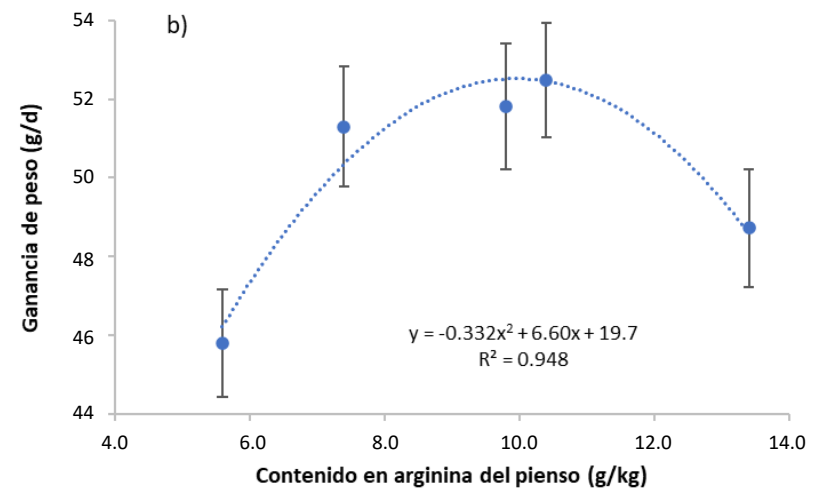
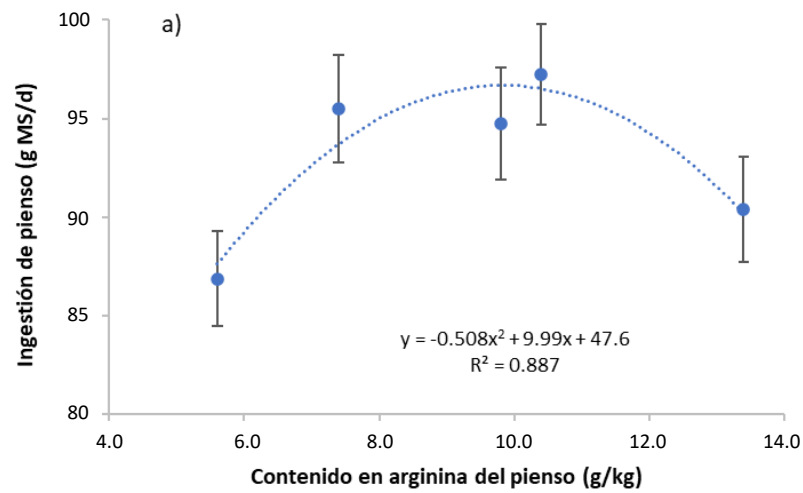


Figura 5. Efecto cuadrático del contenido dietario en arginina sobre la ingestión de pienso [a): de 28 a 49 días; c) de 28 a 63 días] y la ganancia de peso [b): de 28 a 49 días; d) de 28 a 63 días].

En las últimas generaciones de la línea R la GMD no se ha mejorado en la medida prevista. En la generación 34, fue de 46.5 g/d (Pascual et al., 2015). Y más recientemente se ha observado que fue de 44.9 g/d, 50.5 g/d y 47.4 g/d en las generaciones 36, 37 y 38 respectivamente (Juárez et al., 2017). Además, sólo el 1.0% de los animales superan los 60 g/d y menos del 0.1% de los animales crece más de 70 g/d (sobre un total de 30357 animales). Después de 18 generaciones, la línea ha mejorado su GMD, pero mucho menos de lo esperado, $+3.5 \pm 1.5$ g/d, es decir 0.2 g/d por generación (Carnovale, 2017), cuando la selección por GMD en el conejo debería dar un progreso de 0.5-0.8 g/d por generación (Rochambeau et al., 1989; Estany et al., 1992). A pesar de las circunstancias anteriormente mencionadas (Covid-19 y Enteropatía Epizootica del Conejo) que redujeron el tamaño muestral inicialmente previsto, los resultados obtenidos parecen indicar que la línea RF no es de interés como línea paternal. Por el contrario, la línea RLP parece tener un buen potencial como línea paternal, porque mantiene una elevada GMD y es presumible que presente un mejor rendimiento reproductivo que la línea R, ya que es su retrocruce con la línea LP, caracterizada por su alto nivel reproductivo, su buena capacidad lechera y su resiliencia (Theilgaard et al., 2009; García-Quirós et al., 2014; Savietto et al., 2015; Arnau-Bonachera et al., 2018a).

5. CONCLUSIÓN

Teniendo en cuenta el objetivo establecido en este trabajo y las dificultades mencionadas anteriormente, los piensos con un contenido de arginina de 7.4, 9.8 y 10.4 g/kg dieron lugar a una mayor ingestión de pienso y GMD que los alimentados con el pienso con 5.6 g/kg durante la primera parte del cebo (28-49 días). El contenido que parece ser óptimo para los rendimientos productivos se encontraría en torno a los 10.0 g/kg. Con ello, se podría afirmar que las recomendaciones actuales sobre el contenido de arginina del 1% no estarían limitando la expresión del potencial genético de los conejos de engorde con alta tasa de crecimiento.

Por otro lado, en cuanto a las líneas genéticas, los resultados obtenidos parecen indicar que la línea RF no es de utilidad para resolver los problemas actuales de la línea paternal R, ya que presenta menor GMD. Sin embargo, la línea RLP conserva una elevada GMD y puede ser una buena candidata para sustituir a la línea R.

6. BIBLIOGRAFIA

- ADAMSON, I.; FISHER, H., 1976. Further studies on the arginine requirements of the rabbit. *J. Nutr.*, 106: 717-723.
- ALAGÓN, G.; ARCE, O.N.; MARTÍNEZ-PAREDES, E.M.; RÓDENAS, L.; MOYA, V.J.; BLAS, E.; CERVERA, C.; PASCUAL, J.J., 2016. Nutritive value of distillers dried grains with solubles from barley, corn and wheat for growing rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 222: 217-226.
- AOAC, 2002. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 17th Ed. AOAC International, Gaithersburg (USA).
- ARMERO, E.; BASELGA, M.; ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F., 1999. Effects of sire type and sex on pork muscle exopeptidase activity, natural dipeptides and free amino acids. *J. Sci. Food Agric.*, 79: 1280-1284.

- ARNAU-BONACHERA, A.; CERVERA, C.; BLAS, E.; LARSEN, T.; MARTÍNEZ-PAREDES, E.; RÓDENAS, L.; PASCUAL, J., 2018a. Long-term implications of feed energy source in different genetic types of reproductive rabbit females: I. Resource acquisition and allocation. *Animal*, 12(9): 1867-1876.
- ARNAU-BONACHERA, A.; SAVIETTO, D.; PASCUAL, J., 2018b. Long-term implications of feed energy source in different genetic types of reproductive rabbit females: III. Fitness and productivity. *Animal*, 12(9): 1886-1894.
- BASELGA M.; BLASCO A., 1989. *Mejora genética del conejo de producción de carne*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 110 pp.
- BASELGA, M., 2004. Genetic improvement of meat of rabbits. in: *8th World Rabbit Congress*. Ed. World Rabbit Science Association. Mexico, 1: 57-62.
- BONATO, M.A.; SAKOMURA, N.K.; SILVA, E.P.; ARAÚJO, J.A.; SÜNDER, A.; LIEBERT, F., 2015. Amino acid requirements for pullets based on potential protein deposition and the efficiency of amino acid utilization, en: *Nutritional Modelling for Pig and Poultry*. Ed. CAB International Wallingford (UK), 1: 269-282.
- BOSCH, L.; ALEGRÍA, A.; FARRÉ, R., 2006. Application of the 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) reagent to the RP-HPLC determination of amino acids in infant foods. *J. Chromatogr.*, 831: 176-183.
- CARABAÑO, R.; VILLAMIDE, M.J.; GARCÍA, J.; NICODEMUS, N.; LLORENTE, A.; CHAMORRO, S.; MENOYO, D.; GARCÍA-REBOLLAR, P.; GARCÍA-RUIZ, A.I.; DE BLAS, J.C., 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: A review. *World Rabbit Sci.*, 17: 1-14.
- CARNOVALE, F., 2017. Improving of genetic selection and feed conversion ratio in two different generations of meat rabbit. Tesis de Master, Università degli Studi di Napoli Federico II, 67 pp.
- CARTUCHE, L.; PASCUAL, M.; GÓMEZ, E. A.; BLASCO, A., 2014. Economic weights in rabbit meat production. *World Rabbit Sci.*, 22: 165-177.
- COLIN, M., 1975. Effet de la teneur en arginine du régime sur la croissance et le bilan azoté chez le lapin: relation avec le taux de lisine. *Ann. Zootech.*, 24: 629-638.
- CREIGHTON, T.E., 1992. *Proteins: Structures and Molecular Properties*. Ed. Oxford. UK. 507 pp.
- D'MELLO, J.P.F., 2003a. Amino acids as multifunctional molecules, in: *Amino Acids in Animal Nutrition*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford (UK), 1-14.
- D'MELLO, J.P.F., 2003b. Adverse effects of amino acids, in: *Amino Acids in Animal Nutrition*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford (UK), 125-142.
- DE BLAS, J.C.; GONZALEZ-MATEOS, G., 2010. Feed Formulation, in: *Nutrition of the Rabbit*. 2nd Ed. CAB International, Wallingford (UK), 222-232.

- DELGADO, R.; ABAD-GUAMÁN, R.; DE LA MATA, E.; MENOYO, D.; NICODEMUS, N.; GARCÍA, J.; CARABAÑO, R., 2017. Effect of dietary supplementation with arginine and glutamine on the performance of rabbit does and their litters during the first three lactations. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 227: 84-94.
- DELGADO, R.; NICODEMUS, N.; ABAD-GUAMÁN, R.; MENOYO, D.; GARCÍA, J.; CARABAÑO, R., 2019. Effect of arginine and glutamine supplementation on performance, health and nitrogen and energy balance in growing rabbits. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 247: 63-73.
- EL ADIL, 2020. Líneas de producción, visto el 24 de junio de 2020, <http://www.eladil.es/>
- ESTANY, J.; CAMACHO, J.; BASELGA, M.; BLASCO, A., 1992. Selection response of growth rate in rabbits for meat production. *Genet. Sel. Evol.*, 24: 527-537.
- FERRIAN, S.; BLAS, E.; LARSEN, T.; SÁNCHEZ, J.P.; FRIGGENS, N.C.; CORPA, J.M.; BASELGA, M.; PASCUAL, J.J., 2013. Comparison of immune response to lipopolysaccharide of rabbit does selected for litter size at weaning or founded for reproductive longevity. *Res. Vet. Sci.*, 94(3): 518-525.
- FERRIAN, S.; GUERRERO, I.; BLAS, E.; GARCÍA-DIEGO, F.J.; VIANA, D.; PASCUAL, J.J.; CORPA, J.M., 2012. How selection for reproduction or foundation for longevity could have affected blood lymphocyte populations of rabbit does under conventional and heat stress conditions. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 150(1-2): 53-60.
- FORBES, J.M., 1995. Specific nutrients affecting intake, in: *Voluntary food intake and diet selection in farm animals*. 2nd Ed. CAB International. Wallingford (UK), 226-246.
- GAMAN, E.; FISHER, H., 1970. The essentiality of arginine, lysine and methionine for the growing rabbit. *Nutr. Rep. Int.*, 1: 57-64.
- GARCÍA-QUIRÓS, A.; ARNAU-BONACHERA, A.; PENADÉS, M.; CERVERA, C.; MARTÍNEZ-PAREDES, E.M.; RÓDENAS, L.; SELVA, L.; VIANAM D.; CORPA, J.M.; PASCUAL, J.J., 2014. A robust rabbit line increases leucocyte counts at weaning and reduces mortality by digestive disorder during fattening. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 161: 123-131.
- JUÁREZ, J.D.; MARCO-JIMÉNEZ, F.; VICENTE, J.S., 2017. *Efectos transgeneracionales sobre las características de crecimiento de una línea paternal de conejos reconstituida a partir de embriones vitrificados*. en: *XVII Jornadas sobre Producción Animal*. Ed. AIDA. Zaragoza, 347-349.
- LEBAS, F., 1989. Besoins nutritionnels des lapins. Revue bibliographique et perspectives. *Cuni-Sciences.*, 5: 1-28.
- LI, X.L., 2011. Regulation of Porcine Conceptus Survival and Growth by L-Arginine. Tesis de Master. A&M University. Texas, 182 pp.
- MARÍN-GARCÍA, P., 2019. Lysine, sulfur amino acids and threonine requirements of growing rabbits from a line selected by growth rate. Tesis de Master. Universitat Politècnica de València, 141 pp.

- MCWARD, G.W.; NICHOLSON, L.B.; POULTON, B.R., 1967. Arginine requirements of the young rabbit. *J. Nutr.*, 92: 118-120.
- NEURATH, H.; HILL, R.L., 1982. *The Proteins*. Ed. Academic Press, New York. 718 pp.
- PASCUAL, M.; CALLE, E.W.; BLASCO, A., 2015. Comparison of degrees of maturity of rabbit lines selected for different traits. *World Rabbit Sci.*, 23: 155-161.
- PENADÉS, M.; ARNAU-BONACHERA, A.; GARCÍA-QUIRÓS, A.; VIANA, D.; SELVA, L.; CORPA, J.; PASCUAL, J., 2018. Long-term implications of feed energy source in different genetic types of reproductive rabbit females. II. Immunologic status. *Animal*, 12(9):1877-1885.
- RAGAB, M.; SANCHEZ, J.P.; BASELGA, M., 2015. Effective population size and inbreeding depression on litter size in rabbits. *J. Anim. Breed. Genet.*, 132: 68-73.
- RAMAEKERS, P.; KEMP, B.; VAN DER LENDE, T., 2006. Progenos in sows increases number of piglets born. *J. Anim. Sci.* 84, 394 (Abstr.).
- ROCHAMBEAU, H.; DE LA FUENTE, L.F.; ROUVIER, R.; OUHAYOUN, J., 1989. Selection sur la vitesse de croissance post-sevrage chez le lapin. *Genet. Sel. Evol.*, 21: 527-546.
- SAVIETTO, D.; FRIGGENS, N.C.; PASCUAL, J.J., 2015. Reproductive robustness differs between generalist and specialist maternal rabbit lines: the role of acquisition and allocation of resources. *Genet. Sel. Evol.*, 47: 1-11.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS INSTITUTE, 2009. Release 9.2 User's guide, 2nd edition. SAS Institute Inc, Cary (USA).
- THEILGAARD, P.; BASELGA, M.; BLAS, E.; CERVERA, C.; PASCUAL, J.J., 2009. Differences in productive robustness in rabbits selected for reproductive longevity or litter size. *Animal*, 3: 637-646.
- VAN MILGEN, J.; DOURMAD, J.Y., 2015. Concept and application of ideal protein for pigs. *J. Anim. Sci. and Biotechnol*, 6: 15.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.R.; LEWIS, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*, 74: 3583-3597.
- VICENTE, J.S.; LLOBAT, L.; VIUDES DE CASTRO, M.P.; LAVARA, R.; BASELGA, M.; MARCO-JIMÉNEZ, F., 2012. Gestational losses in a rabbit line selected for growth rate. *Theriogenology*, 77: 81-88.
- VICENTE, J.S.; LLOBAT, M.D.; JIMÉNEZ-TRIGOS, E.; LAVARA, R.; MARCO-JIMÉNEZ, F., 2013. Effect of embryonic and maternal genotype on embryo and foetal survival in rabbit. *Reprod. Domest. Anim.*, 48: 402-6.