

XLII Symposium
de cunicultura
de ASESCU
MURCIA
Libro de Actas

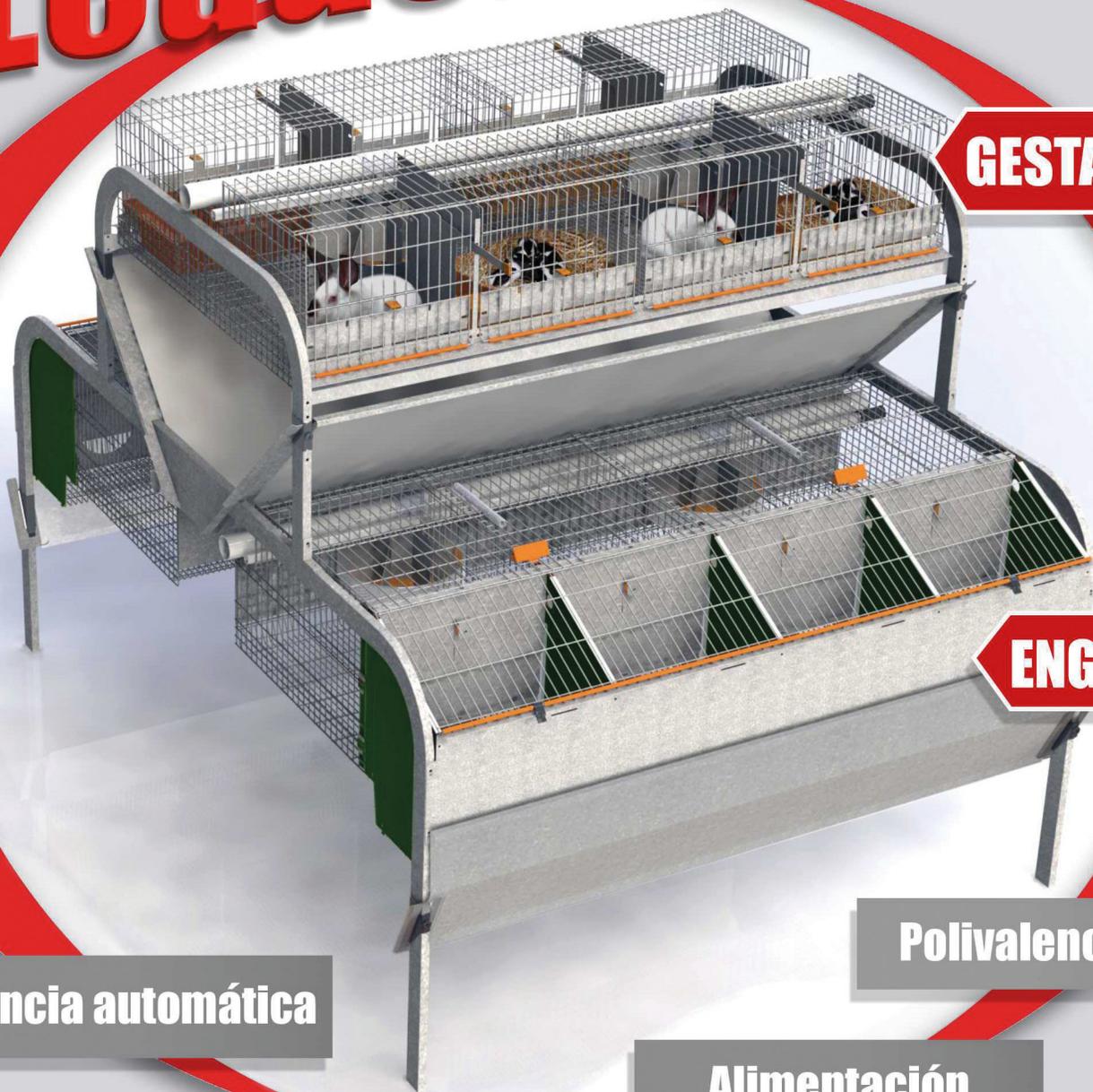


INTERCUN



Organización
Interprofesional
Cunicola

Leader 16



GESTACIÓN

ENGORDE

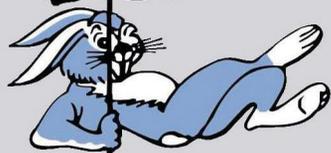
Lactancia automática

Polivalencia

**Bebedero
(chupete roscado)**

**Alimentación
(racionamiento sin fin)**

GOMEZ Y
CRESPO



**Cunicultura
Industrial**



GOMEZ Y CRESPO



Ctra. Castro de Beiro, 41 32001 Ourense. España.
Telf.:988 217754 - Fax.:988 215063 E-mail:info@gomezycrespo.com

www.gomezycrespo.com

LIBRO DE ACTAS

XLII SYMPOSIUM DE CUNICULTURA DE ASESCU

Murcia, 11 y 12 de mayo de 2017

Coordinadores:

Juan Manuel Corpa Arenas
Juan Orengo Femenía
Ceferino Torres Lozano
Fuensanta Hernández Ruipérez
Silvia Martínez Miró
Josefa Madrid Sánchez
Christian de la Fe Rodríguez
Pedro González Redondo

organizan



Patrocinan



**El XLII Symposium de Cunicultura de ASESCU
se celebró en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia
los días 11 y 12 de mayo de 2017**

El simposio fue organizado por:

Asociación Española de Cunicultura (ASESCU)
Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia

Contó con el patrocinio de las siguientes empresas:

Copele
Coren
Intercun

Contó con la colaboración de las siguientes empresas e instituciones:

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
Andrés Pintaluba
Carnesana
Chabeauti
Cogal
Elanco
Gómez y Crespo
Hermi
Hipra
Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de la Región de Murcia
La Manchuela
Laboratorios IVEN
Nanta
Nutriad
Hipra
Upa Murcia

Los coordinadores de este libro de actas fueron:

Juan Manuel Corpa Arenas
Juan Orengo Femenía
Ceferino Torres Lozano
Fuensanta Hernández Ruipérez
Silvia Martínez Miró
Josefa Madrid Sánchez
Christian de la Fe Rodríguez
Pedro González Redondo

Edita:

Editorial Agrícola Española, S.A.
C/ Caballero de Gracia, 24 3º Izda.
28013 Madrid

ISBN: 978-84-92928-77-4

Depósito Legal: M-12475-2017

PROGRAMA

PROGRAMA XLII SYMPOSIUM DE CUNICULTURA

Murcia, 11 y 12 de mayo de 2017.

Jueves 11 de mayo

- 8:15-9:15 h Acreditación y entrega de documentación
- 9:15-9:30 h Inauguración del *Symposium*
- 9:30-10:15 h Ponencia: **"La cunicultura en la Región de Murcia"**. D. Juan Orengo. Profesor Titular. Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia
- 10:15-11:15 h Comunicaciones de REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

Consecuencias de una restricción de la alimentación durante la gestación de la coneja sobre el crecimiento fetoplacentario. Rodríguez M., Arias-Álvarez M., Formoso-Rafferty N., Velasco B., Sánchez A., Lorenzo P.L., García-García R.M., Rebollar P.G.

Selección por varianza residual del tamaño de camada: consecuencias en los componentes del tamaño de camada. García M.L., Blasco A., Argente M.J.

Hacia el tamaño de camada óptimo de las conejas. Savietto D.

La movilización de grasa entre la segunda inseminación y el destete está positivamente relacionada con el éxito reproductivo en conejas primíparas Delgado R., Abad-Guamán R., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

- 11:15-11:45 h Pausa para café y sesión de pósteres
- 11:45-12:30 h Ponencia: **"Desmedicalización"**. D^a Consuelo Rubio Montejano. Jefa Departamento de Medicamentos Veterinarios. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS)
- 12:30-14:00 h Comunicaciones de PATOLOGÍA

Las nuevas metodologías moleculares y los cultivos de órganos han abierto una nueva perspectiva en la investigación de la Enteropatía Epizootica del Conejo. Bäuerl C., Cabrera Rubio R., Gallina O., Valero A., Collado M.C., Pérez Martínez G.

Tipado capsular de *Pasteurella multocida* mediante PCR en tiempo real y su aplicación directa en muestras clínicas de conejo. Arnal J.L., Sanz C., Serrano D., Benito A., Chacón G., Fernández A.

Detección y aislamiento de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo RHDV2/b en micromamíferos silvestres en el Norte de España. Mendoza M., Calvete C., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Luján Ll., Molín J., Calvo A.J., Monroy F., Calvo J.H.

Respuesta inmunitaria del conejo frente a *Staphylococcus aureus*. Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Moreno-Grúa E., Corpa J.M., Selva L., Viana D.

Estado actual de las cepas de *Staphylococcus aureus* en granjas cunícolas. Pérez-Fuentes S., Muñoz-Silvestre A., Moreno-Grúa E., Viana D., Selva L., Corpa J.M.

Evolución de la virulencia de *Staphylococcus aureus* en los últimos 15 años. Moreno-Grúa E., Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Corpa J.M., Viana D., Selva L.

14:00-16:00 h Comida de trabajo en la Facultad de Veterinaria

16:00-16:45 h Mesa Redonda: **"Alternativas al empleo masivo de medicamentos. Estrategias utilizadas actualmente"**.

16:45-17:15 h Comunicaciones de ETOLOGÍA Y BIENESTAR

Comportamiento, miedo y estrés en conejos de engorde: resultados en condiciones de alojamiento inadecuadas. Zomeño C., Xiccato G., Filiou E., Birolo M., Bertotto D., Zuffellato A., Trocino A.

Producción de conejas en sistemas de alojamiento individual o colectivo en semigrupo. Cervera C., Martínez-Paredes E., Machado L., Villagra A.

17:15-18:00 h Ponencia: **"Nuevas alianzas estratégicas: Las Organizaciones de Productores"**. D^a Ruth Morales. Jefa Servicio. Subdirección General de Productos Ganaderos. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente

18:00-18:30 h Pausa para café y sesión de pósteres

18:30-19:15 Debate: **"Las Organizaciones de Productores. Problemas y ventajas"**.

19:15 h Visitas Organizadas en la Universidad: Granja, Hospital Veterinario y Museo

21:30 h **Cena de Gala** en el Centro de Negocios Marla Center. Al final de la cena se realizará la entrega del **"PREMIO PARA JÓVENES INVESTIGADORES ASESCU-LABORATORIOS PINTALUBA"**

Viernes 12 de mayo

09:00-10:00 h Asamblea de ASESCU

10:00-10:45 h Comunicaciones de GESTIÓN, PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE PRODUCTOS

El vacío llena: Impacto técnico y económico de los sistemas todo dentro todo fuera (TDTF) en cunicultura. Rafel O., Gómez E.A., Casas J., Garriga R., Pascual M.

¿Son los sistemas extensivos de producción una alternativa para reducir el uso de antibióticos?. Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

Composición de ácidos grasos de la carne de conejo en función de la línea genética y la dieta. Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

- 10:45-11:30 h Ponencia: **"Infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus*: principales formas de presentación"**. D. Juan Manuel Corpa Arenas. Catedrático de Histología y Anatomía Patológica Veterinaria. Universidad CEU Cardenal Herrera.
- 11:30-12:00 h Pausa para café y sesión de pósteres
- 12:00-13:15 h Comunicaciones de NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

Determinación de las necesidades de treonina en conejos de engorde a partir del nivel de nitrógeno ureico plasmático. Marín-García P.J., Martínez-Paredes E.M., Ródenas L., López M.C., Arnau-Bonachera A., Blas E., Pascual J.J.

Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre el rendimiento de conejas primíparas y sus camadas hasta el segundo parto. Farias C., Noboa T., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., Nicodemus N., García J.

Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre la digestibilidad fecal y la condición corporal de conejas nulíparas hasta el segundo parto. Noboa T., Farias C., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

Efeito da incorporaçãõ de palha de feijão frade (*Vigna unguiculata*) não tratada ou tratada com fungos (*Pleurotus citrinopileatus*) na dieta de coelhos em crescimento sobre as performances e digestibilidade Andrade E., Pinheiro V., Gonçalves A., Marques Guilhermina G., Silva V., Martins J.J., Ferreira L., Rodrigues M.

Efecto del nivel de restricción alimentaria y la densidad animal sobre los rendimientos productivos y de la canal en conejos en crecimiento. Medina J.A., García-Ruiz A.I., Marco M., Terreros E., Fernández-Schwarz B., Alfonso C., Saiz A.

13:15-14:15 h Avances en los proyectos INIA-INTERCUN

Bienestar Animal. D^a Concha Cervera Fras. Catedrática de Nutrición animal. Universidad Politécnica de Valencia (UPV)

Enteropatía. D. Ignacio Badiola Saiz Investigador CReSA

Enfermedades víricas. D. José Francisco Parra Fernández. Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Oviedo

14:15 h Clausura del *Symposium*

PÓSTERES:

Predicción de la producción de leche de la coneja en lactaciones de 25 días a partir del peso de la camada. Farias C., Delgado R., Abad-Guamán R., Villamide M.J., Menoyo D., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

Detección mediante PCR-dúplex a tiempo real y aislamiento de virus RHDV2/b durante un brote de enteropatía mucoide. Mendoza M., Calvete C., Comenge J., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Calvo J.H.

Primeiro caso de deteção de *Talaromyces marneffe* numa lebre (*Lepus granatensis*). Alves D., Matos A.C., Saraiva S., Soares A.S., Figueira L., Pinheiro V., Matos M., Coelho A.C.

Efecto de línea genética, dieta y género en el crecimiento relativo en conejos. Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

Obtención de productos de alto valor añadido en el sector cunícola: efecto de la línea genética y la dieta sobre caracteres de crecimiento. Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

Performances e digestibilidade de coelhos na engorda sujeitos a uma restrição de água. Pinheiro V., Gonçalves J., Monteiro D., Mourão J.L.

Comparación de la calidad de la carne de conejo convencional y conejo ecológico. Villora J., Martínez Miró S., Hernández F., Linares M.B., Garrido M.D.

Estudio de la calidad de la carne en líneas de conejo seleccionadas. Garro L., Orengo J., Egea M., Madrid J., Garrido M.D.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Comités del XLII <i>Symposium</i> de Cunicultura | 13 |
| Presentación del Presidente de ASESCU | 15 |
| Presentación del Comité Organizador | 17 |

PONENCIAS

| | |
|--|----|
| Infecciones provocadas por <i>Staphylococcus aureus</i> : principales formas de presentación Corpa J.M., Selva L., Viana D. | 20 |
| Las organizaciones de productores en cunicultura. Motivaciones, regulación y conexiones con la realidad del sector productivo de carne de conejo Montero L., Buitrago J.M., Escribá C., Baviera A. | 30 |

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

| | |
|---|----|
| Consecuencias de una restricción de la alimentación durante la gestación de la coneja sobre el crecimiento fetoplacentario Rodríguez M., Arias-Álvarez M., Formoso-Rafferty N., Velasco B., Sánchez A., Lorenzo P.L., García-García R.M., Rebollar P.G. | 40 |
| Selección por varianza residual del tamaño de camada: consecuencias en los componentes del tamaño de camada García M.L., Blasco A., Argente M.J. | 45 |
| Hacia el tamaño de camada óptimo de las conejas Savietto D. | 49 |
| La movilización de grasa entre la segunda inseminación y el destete está positivamente relacionada con el éxito reproductivo en conejas primíparas Delgado R., Abad-Guamán R., Carabaño R., García J., Nicodemus N. | 54 |

Predicción de la producción de leche de la coneja en lactaciones de 25 días a partir del peso de la camada
 Farias C., Delgado R., Abad-Guamán R., Villamide M.J., Menoyo D., Carabaño R., García J., Nicodemus N.....59

PATOLOGÍA

Las nuevas metodologías moleculares y los cultivos de órganos han abierto una nueva perspectiva en la investigación de la Enteropatía Epizoótica del Conejo
 Bäuerl C., Cabrera Rubio R., Gallina O., Valero A., Collado M.C., Pérez Martínez G.64

Tipado capsular de *Pasteurella multocida* mediante PCR en tiempo real y su aplicación directa en muestras clínicas de conejo
 Arnal J.L., Sanz C., Serrano D., Benito A., Chacón G., Fernández A.....70

Detección y aislamiento de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo RHDV2/b en micromamíferos silvestres en el Norte de España
 Mendoza M., Calvete C., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Luján Ll., Molín J., Calvo A.J., Monroy F., Calvo J.H.75

Respuesta inmunitaria del conejo frente a *Staphylococcus aureus*
 Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Moreno-Grúa E., Corpa J.M., Selva L., Viana D.80

Estado actual de las cepas de *Staphylococcus aureus* en granjas cunícolas
 Pérez-Fuentes S., Muñoz-Silvestre A., Moreno-Grúa E., Viana D., Selva L., Corpa J.M.85

Evolución de la virulencia de *Staphylococcus aureus* en los últimos 15 años
 Moreno-Grúa E., Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Corpa J.M., Viana D., Selva L.89

Detección mediante PCR-dúplex a tiempo real y aislamiento de virus RHDV2/b durante un brote de enteropatía mucoide
 Mendoza M., Calvete C., Comenge J., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Calvo J.H.....93

Primeiro caso de deteção de *Talaromyces marneffe* numa lebre (*Lepus granatensis*)
 Alves D., Matos A.C., Saraiva S., Soares A.S., Figueira L., Pinheiro V., Matos M., Coelho A.C.96

ETOLOGÍA Y BIENESTAR

Comportamiento, miedo y estrés en conejos de engorde: resultados en condiciones de alojamiento inadecuadas
 Zomeño C., Xiccato G., Filiou E., Birolo M., Bertotto D., Zuffellato A., Trocino A..... 100

Producción de conejas en sistemas de alojamiento individual o colectivo en semigrupo
 Cervera C., Martínez-Paredes E., Machado L., Villagra A. 105

GESTIÓN Y PRODUCCIÓN

- El vacío llena: Impacto técnico y económico de los sistemas todo dentro todo fuera (TDTF) en cunicultura
Rafel O., Gómez E.A., Casas J., Garriga R., Pascual M. 110
- ¿Son los sistemas extensivos de producción una alternativa para reducir el uso de antibióticos?
Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E. 117
- Efecto de línea genética, dieta y género en el crecimiento relativo en conejos
Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E. 122
- Obtención de productos de alto valor añadido en el sector cunícola: efecto de la línea genética y la dieta sobre caracteres de crecimiento
Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E. 127

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

- Determinación de las necesidades de treonina en conejos de engorde a partir del nivel de nitrógeno ureico plasmático
Marín-García P.J., Martínez-Paredes E.M., Ródenas L., López M.C., Arnau-Bonachera A., Blas E., Pascual J.J. 132
- Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre el rendimiento de conejas primíparas y sus camadas hasta el segundo parto
Farias C., Noboa T., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., Nicodemus N., García J. 136
- Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre la digestibilidad fecal y la condición corporal de conejas nulíparas hasta el segundo parto
Noboa T., Farias C., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., García J., Nicodemus N. 140
- Efeito da incorporaco de palha de feijo frade (*Vigna unguiculata*) no tratada ou tratada com fungos (*Pleurotus citrinopileatus*) na dieta de coelhos em crescimento sobre as performances e digestibilidade
Andrade E., Pinheiro V., Gonçalves A., Marques Guilhermina G., Silva V., Martins J.J., Ferreira L., Rodrigues M. 144
- Efecto del nivel de restricción alimentaria y la densidad animal sobre los rendimientos productivos y de la canal en conejos en crecimiento
Medina J.A., García-Ruiz A.I., Marco M., Terreros E., Fernández-Schwarz B., Alfonso C., Saiz A. 149
- Performances e digestibilidade de coelhos na engorda sujeitos a uma restrico de gua
Pinheiro V., Gonçalves J., Monteiro D., Mourão J.L. 153

CALIDAD DE PRODUCTOS

| | |
|---|------------|
| Composición de ácidos grasos de la carne de conejo en función de la línea genética y la dieta Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E. | 160 |
| Comparación de la calidad de la carne de conejo convencional y conejo ecológico Villora J., Martínez Miró S., Hernández F., Linares M.B., Garrido M.D. | 165 |
| Estudio de la calidad de la carne en líneas de conejo seleccionadas Garro L., Orengo J., Egea M., Madrid J., Garrido M.D. | 169 |

Comités del 42 *Symposium* de Cunicultura

Comité Científico:

Juan Manuel Corpa Arenas (Presidente)

Pedro González Redondo

Fuensanta Hernández Ruipérez

Silvia Martínez Miró

Juan Orengo Femenía

Christian de la Fe Rodríguez

Comité Organizador:

Juan Orengo Femenía (Presidente)

Ceferino Torres Lozano

Juan Manuel Corpa Arenas

Pedro González Redondo

Josefa Madrid Sánchez

Silvia Martínez Miró

Presentación del Presidente de ASESCU

Queridos socios de ASESCU y participantes en el *Symposium*:

Un año más afrontamos nuestro *Symposium* de cunicultura. En mi caso, con especial ilusión ya que es el primero como presidente de ASESCU. En esta ocasión, la 42 edición, se celebra en la maravillosa ciudad de Murcia, donde nos acogen nuestros compañeros de la Facultad de Veterinaria, a los que quisiera mostrar el agradecimiento de toda la asociación y el mío personal.

En los últimos 12 meses se han producido varias noticias que han convulsionado al sector cunícola y que han condicionado, como no podía ser de otra forma, el contenido del presente *Symposium* para conferirle la actualidad que siempre lo ha caracterizado.

El debate sobre el reducido número de medicamentos disponibles en nuestro sector junto a la, cada vez más exigente, normativa sobre la calidad farmacológica de los mismos, unido a la recomendación de la Unión Europea sobre una utilización responsable de los medicamentos, en especial de los antibióticos, ha provocado que parte de este *Symposium* gire en torno a la **desmedicalización** y posibles alternativas que permitan una reducción en el empleo de medicamentos.

La organización común de mercados de los productos agrarios, creada por el Parlamento Europeo (Reglamento nº 1308/2013 de 17/12/13), fomenta la constitución de **organizaciones de productores** como mecanismo de apoyo para diferentes sectores con el fin de estimular el trabajo conjunto y mejorar su posición. En esta línea, ASESCU organizó una primera sesión sobre las Organizaciones de Productores en cunicultura en la pasada FIGAN (29/03/17) y quiere seguir ahondando, durante este *Symposium*, en esta interesante forma de asociación en nuestro sector.

Como ya es habitual, tendremos una sesión donde se presentarán los resultados más recientes de los **proyectos co-financiados entre INTERCUN y el INIA** y las tradicionales comunicaciones científicas, tanto en formato oral como en póster, en las diferentes áreas de conocimiento.

Por otra parte, hemos rescatado la **Cena de Gala**, con el convencimiento de que constituye el marco perfecto de encuentro informal de toda reunión científica y profesional. Este será también el foro donde se celebre la ceremonia de entrega del recientemente constituido **“Premio para jóvenes investigadores ASESCU”** que, en esta ocasión, está financiado por los Laboratorios Andrés Pinaluba, S.A. Con esta actividad pretendemos fomentar y estimular la incorporación de nuevos investigadores a los grupos de investigación que trabajan para nuestro sector, garantizando su renovación y continuidad en el tiempo.

Quisiera agradecer también a todas las empresas que apoyan la organización del *Symposium* y sin cuyo patrocinio sería complicada la celebración de este importante evento.

Por último, quisiera despedirme con el deseo de que, una vez más, el *Symposium* de cunicultura constituya un foro de difusión e intercambio de conocimientos científicos y experiencias profesionales que contribuya a enriquecer y fortalecer al sector cunícola.

Atentamente,

Juan Manuel Corpa Arenas
Presidente de ASESCU

Presentación del Comité Organizador

Estimados compañeros y asistentes al *Symposium* de cunicultura:

El Comité Organizador se complace en acoger la celebración, por primera vez en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, de la edición anual del *Symposium* los días 11 y 12 de mayo de 2017. Desde aquí, queremos manifestar públicamente nuestro agradecimiento por la confianza depositada por parte de ASESCU para la organización de dicho evento. Al mismo tiempo queremos abrir las puertas de nuestro Centro y dar la bienvenida a todos los participantes de esta cuadragésimo segunda edición. La sede del *Symposium* será el Aula Magna de la Facultad. Hemos organizado una reunión de elevado nivel científico-técnico, en la que dar difusión de los últimos avances en el ámbito de cunicultura en sus diferentes áreas, así como abordar la problemática actual del sector.

No cabe duda que en los últimos tiempos, en general, no corren tiempos fáciles en el sector primario y, en particular, en el mundo de la cunicultura. Nos enfrentamos ante un futuro incierto y plagado de nuevos retos y cambios (antibiorresistencia y desmedicalización de las producciones animales, legislación a nivel comunitario sobre el bienestar animal en conejos, etc.) en un contexto complicado, con caída de precios y de demanda de la carne de conejo que ha comprometido y está comprometiendo la viabilidad de las granjas de producción tanto a nivel regional como nacional y, a pesar de las campañas de fomento y promoción de su consumo en medios de comunicación y redes sociales.

Ante la situación de emergencia que afrontamos, es donde se hace, si cabe más todavía, la importancia del diálogo entre los diferentes eslabones de la cadena de producción de carne de conejo. De esta forma, la participación de todos los agentes/actores en este tipo de reuniones donde se dan cita pequeños y grandes productores, comunidad científica, administración y empresas y profesionales adquiere especial relevancia, y debe ser punto de encuentro para la búsqueda consensuada de soluciones y nuevas oportunidades.

Desde nuestro Centro, la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, sentimos que no es una necesidad, sino más bien una obligación el fomentar y facilitar la organización de este tipo de actividades y reuniones profesionales. En este sentido, quisiera agradecer la valiosa aportación de vuestros trabajos, así como agradecer a las instituciones y empresas o entidades patrocinadoras y/o colaboradoras de este evento, cuya celebración no sería posible sin su presencia.

Por último, no quisiera despedirme sin desear que durante vuestra estancia en Murcia podáis disfrutar de la gastronomía, cultura y atractivo que ofrece la Región y Ciudad de Murcia en general, y de la hospitalidad de los murcianos en particular. Así pues, esperamos que por las fechas previstas nos acompañe una climatología agradable que os invite a prolongar vuestra visita, y confiando en que el contenido y temática del *Symposium* sea del interés general.

Atentamente,

Juan Orenge Femenía
Presidente del Comité Organizador

PONENCIAS

- Infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus*: principales formas de presentación

Corpa J.M., Selva L., Viana D.

- Las organizaciones de productores en cunicultura. Motivaciones, regulación y conexiones con la realidad del sector productivo de carne de conejo

Montero L., Buitrago J.M., Escribá C., Baviera A.

Infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus*: principales formas de presentación

Infections associated to Staphylococcus aureus: main presentation forms

Corpa J.M.*, Selva L., Viana D.

Instituto de Investigación CEU de Ciencias Biomédicas (Grupo de Patología y Sanidad Animal), Facultad de Veterinaria, PASAPTA, Universidad CEU Cardenal Herrera, C/ Tirant lo Blanc 7, 46115 Alfara del Patriarca (Valencia)

Dr. D. Juan Manuel Corpa Arenas

Catedrático de Histología y Anatomía Patológica.

Presidente de ASESCU

Director del Instituto de Investigación CEU de Ciencias Biomédicas

* Dirección de contacto: jmcorpa@uchceu.es

Gran parte de este texto ha sido tomado de la siguiente revisión:

Corpa J.M., Hermans K., Haesebrouck F. 2009. Main pathologies associated with *Staphylococcus aureus* infections in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 115-125.

Introducción

Staphylococcus aureus es un microorganismo versátil y oportunista que es capaz de persistir y multiplicarse en una gran variedad de ambientes causando un amplio espectro de lesiones tanto en humanos como en animales (Cuarella y col., 2004). En animales, las infecciones estafilocócicas provocan importantes pérdidas económicas a lo largo de todo el mundo (Mork y col., 2005). Esta bacteria afecta a conejos de diferentes edades, infecta heridas en la piel e invade el tejido subcutáneo (Okerman y col., 1984), provocando diferentes patologías como dermatitis supurativa, mastitis, abscesos multisistémicos y pododermatitis (Hagen, 1963; Vancraeynest y col., 2004; Segura y col., 2007). En gazapos lactantes, la lesión más típica es la dermatitis exudativa (Okerman y col., 1984; Holliman y Girvan, 1986). En conejos de cebo, la presencia de abscesos provoca un incremento de los decomisos en matadero. La presencia de abscesos en pulmones, hígado y útero se observan de forma esporádica provocando una reducción de la producción, infertilidad y, en ocasiones, la muerte de los animales (Vancraeynest y col., 2006a). Las mastitis son la principal causa, detectable macroscópicamente, de eliminación de conejas reproductoras, seguida de abscesos subcutáneos y piómetras (Segura y col., 2007). Por último, las estafilococias causadas por *S. aureus* en conejos pueden dar lugar a una septicemia fatal o inflamaciones supurativas en prácticamente cualquier órgano o localización (Flatt, 1974).

Se ha descrito que los conejos pueden infectarse por dos tipos de cepas de *S. aureus*: cepas de alta y baja virulencia. Los animales sanos podrían ser portadores de cepas de alta virulencia y se acepta que estos microorganismos son habitualmente introducidos por animales portadores en granjas sin historial previo de estafilococias (Devriese y col., 1981). Cualquier parte del cuerpo puede colonizarse (Hermans y col., 1999) y se ha señalado que el estado de portador favorecería la invasión de lesiones traumáticas primarias (Okerman y col., 1984). Debido a que se ha comprobado que el aislamiento de los animales afectados o el sacrificio de animales enfermos no previene la enfermedad, se considera que la presencia de portadores sanos con cepas patogénicas permite que se mantenga la infección dentro de la granja. Además, los gazapos sanos de una hembra enferma pueden transmitir la infección cuando son adoptados por una hembra sana (Adlam y col., 1976).

En la mayor parte de las granjas, la infección tiene lugar de forma esporádica y únicamente provoca pérdidas menores (Okerman y col., 1984; Holliman y Girvan, 1986). Estas infecciones suelen estar provocadas por cepas poco virulentas. No obstante, en los años 60, se describieron graves brotes de estafilococia, que provocaron importantes pérdidas económicas en EEUU (Hagen, 1963). Posteriormente también aparecieron en varios países europeos como Inglaterra (Holliman y Girvan, 1986), Italia, Francia y Bélgica (Okerman y col., 1984). Esta forma especial de enfermedad estafilocócica, asociada con altas tasas de mortalidad en animales jóvenes, fue asociada a cepas específicas altamente virulentas.

Aunque la estafilococia es una enfermedad bien conocida en conejos, como se ha podido comprobar en la introducción, en los últimos años la preocupación de los ganaderos y veterinarios ha ido en aumento por la aparición de brotes muy virulentos, junto a la falta de respuesta a los tratamientos habituales. Por esta razón en esta ponencia se pretende revisar las principales formas de presentación de esta patología y actualizar, en la medida de lo posible (no hay mucha información sobre este tema en conejos), los conocimientos y hallazgos al respecto.

Etiología y epidemiología

Las estafilococias en conejos están causadas por *S. aureus*. Esta especie está dividida en varios biotipos basándose en sus propiedades bioquímicas. Algunos biotipos son considerados específicos de hospedador, mientras que otros podrían colonizar diferentes hospedadores. Se han descrito biotipos humanos, bovinos, ovinos y aviares (Devriese, 1984). Cepas de estos biotipos podrían ocasionalmente encontrarse en otras especies animales. Recientes hallazgos de nuestro grupo han demostrado que los estafilococos que afectan a los conejos proceden de un estafilococo humano que, hace algo más de 40 años, sufrió una mutación puntual en un nucleótido (Viana y col., 2015).

Las cepas de *S. aureus* de baja virulencia que provocan infecciones en conejos pertenecerían a los biotipos humanos o aviares (Devriese y col., 1981; Devriese, 1984). Sin embargo, los brotes severos de esta enfermedad en las granjas cunícolas son normalmente provocados por cepas altamente virulentas pertenecientes a otro biotipo, el tipo mixto "mixto CV-C" (Devriese, 1984; Devriese y col., 1996). Este biotipo difiere de la mayor parte de las cepas humanas y de todas las cepas aviares en su capacidad para producir beta hemolisina. Además, las cepas humanas producen estafiloquinasa, mientras que las aviares muestran un tipo de crecimiento diferente al crecer en agar triptosa con cristal violeta. Las cepas de *S. aureus* altamente virulentas que siempre pertenecen al biotipo "mixto CV-C", son típicamente beta-hemolisina positivas, estafiloquinasa negativas y muestran un crecimiento púrpura en agar cristal violeta (Devriese y col., 1981, 1996). El biotipado no es suficiente para distinguir entre cepas de *S. aureus* ya que el biotipo "mixto CV-C" comprende cepas cunícolas de alta y baja virulencia (Devriese y col., 1981). Por lo tanto, se requieren otros métodos de tipificación. Se ha empleado el fagotipado (tipificación mediante fagos) lo que proporciona una subdivisión adicional de cepas de *S. aureus* mediante la identificación de bacteriófagos a los cuales la bacteria es susceptible. El fagotipado se realiza con bacteriófagos de la colección internacional para las cepas de *S. aureus* humanas (Parker, 1962). Las cepas de baja y alta virulencia presentan un diferente patrón de susceptibilidad a los diferentes fagos (Devriese y col., 1981, 1996; Hermans y col., 1999).

Además de su caracterización fenotípica, las cepas de *S. aureus* cunícolas han sido examinadas genotípicamente. Hermans y col. (2000) describieron que las cepas de alta virulencia pertenecían a un tipo específico de RAPD ("Randomly Amplified Polimorphic DNA"). Sus estudios sugieren un origen clonal único de las cepas muy virulentas (Hermans y col., 2000; Hermans y col., 2001). Estos hallazgos fueron confirmados por Van Craeynest y col. (2006a) utilizando la técnica de la electroforesis en campo pulsado (PFGE - "Pulsed Field Gel Electrophoresis") ya que todas las cepas altamente virulentas pertenecían al mismo tipo de PFGE. Más recientemente nuestro grupo (Viana y col., 2007), utilizando un método de genotipado diferente, basado en tres marcadores genéticos (coagulasa, proteína A estafilocócica y el factor de agregación B), detectamos la existencia de un genotipo dominante (A1/II1/delta) en la provincia de Valencia, presente en la mayor parte de las granjas y lesiones provocadas por *S. aureus* y que podría considerarse como una cepa altamente virulenta.

La diseminación de cepas altamente virulentas en conejos domésticos es relativamente reciente, describiéndose por primera vez en 1963 en EEUU (Hagen, 1963). En Europa, estas infecciones aparecieron en los años 80 del siglo XX, cuando se reportaron varios brotes en países europeos (Devriese y col., 1981; Okerman y col., 1984; Carolan, 1986; Holliman y Girvan, 1986; Devriese y col., 1987; Rossi y col., 1995; Devriese y col., 1996). Este escenario fue probablemente el resultado de un incremento en la densidad de los animales como consecuencia de la transformación del sector cunícola, con la sustitución de las granjas tradicionales por otras con un mayor número de animales. Las elevadas densidades de animales incrementa la importancia de las enfermedades infecciosas ya que favorecen la diseminación de los agentes patógenos.

La diseminación de las estafilococias se ha descrito en granjas con buenas y deficientes medidas higiénicas (Hermans y col., 1999), lo que podría indicar que, en la diseminación de la bacteria dentro de la granja, sería más importante la interacción entre la bacteria y el hospedador (el conejo) que las medidas de manejo. Se ha observado que las bacterias de alta virulencia tienen una mayor capacidad de colonizar los epitelios de los conejos (Hermans y col., 1999). Una mejor colonización constituiría una ventaja de estas cepas, que se traduciría en una mayor presión infectiva, lo que podría incrementar el riesgo de aparición de la enfermedad en la granja.

La transmisión de cepas de *S. aureus* de alta y baja virulencia de humanos a conejos o entre conejos podría producirse de forma directa o indirecta a través de las jaulas, el pelo o la comida (Devriese y col., 1987; Matthes, 1995; Rossi y col., 1995). La transmisión directa de la bacteria puede producirse entre conejas y gazapos lactantes (Devriese y col., 1981; Matthes, 1995), entre individuos de la misma camada y entre camadas de la misma nave (Devriese y col., 1981). Devriese y col. (1981; 1987) observaron que granjas cunícolas infectadas con idénticas cepas de *S. aureus* estuvieron en contacto directo o indirecto, y que la entrada de nuevas conejas reproductoras era la fuente más probable de infección. El semen (incluso utilizando inseminación artificial) podría también suponer un riesgo potencial de infección por cepas altamente virulentas (Rossi y col., 1995).

Patogenia y lesiones

Por lo general, la infección por *S. aureus* provoca lesiones supurativas o formación de abscesos en el lugar de la infección (Hermans y col., 2003). Las lesiones más habituales asociadas a *S. aureus* son, por lo tanto, dermatitis supurativas, mastitis, abscesos (subcutáneos o afectando a órganos internos) y pododermatitis (Okerman y col., 1984; Segura y col., 2007).

Dermatitis supurativa

En los países mediterráneos, los veterinarios, técnicos y ganaderos consideran el término "estafilococia" como sinónimo de "estafilococosis cutánea" (Rosell, 2000). Aunque la primera referencia de esta condición data de 1903 (Catterina, 1903 citado por Rosell, 2000) la primera descripción detallada se publicó en 1963 (Hagen, 1963). Se ha reseñado varios brotes de esta forma cutánea de estafilococosis, asociada con elevada mortalidad en gazapos (Hagen, 1963; Okerman y col., 1984). En estos casos, aunque se observaron diferentes formas de presentación, fue en los gazapos más jóvenes en los que se detectó una dermatitis supurativa con pequeñas pústulas superficiales. Se acompañaban de importantes pérdidas, centradas principalmente en la segunda semana de vida, afectando a toda la camada y provocando la muerte de los animales. En los conejos de mayor edad se observaban abscesos subcutáneos de diferente tamaño, así como rinitis y conjuntivitis en lactantes (Okerman y col., 1984). En estos casos, las mayores pérdidas económicas se relacionaban con la presencia de mastitis crónicas donde parte de las pérdidas se asociaban a la dificultad de los gazapos para mamar (Devriese y col., 1996). Fue durante esa serie de brotes cuando se acuñó el término *S. aureus* de "alta virulencia".

Es probable que el portal de entrada sea tanto el muñón umbilical o heridas en la piel o ambos. La infección probablemente tiene lugar el mismo día del nacimiento, ya que se ha descrito que gazapos sanos que han sido transferidos, durante la primera semana tras el nacimiento, a camadas infectadas no han desarrollado abscesos (Hagen, 1963).

La estafilococosis cutánea se caracteriza por una dermatitis supurativa que se observa principalmente en gazapos. Los animales desarrollan pequeños y numerosos abscesos distribuidos principalmente por la zona abdominal, la parte interna de las extremidades anteriores y la zona ventral de la mandíbula. Cuando los conejos tienen 3-5 días aparecen lesiones puntiformes que evolucionan hacia pústulas caseosas. Alrededor de los 10 días, las lesiones adquieren un color oscuro al cubrirse por el pelaje (Hagen, 1963). La septicemia es una consecuencia habitual con la presencia de abscesos en corazón, pulmones y, a veces, en el cerebro y riñones (Okerman y col., 1984). Cuando se desarrolla la septicemia, se pueden observar también focos de necrosis dispersos en dichos órganos (Hagen, 1963).

Mastitis

Sin lugar a dudas la consecuencia más adversa de la infección estafilocócica en conejas reproductoras es la aparición de mastitis. De hecho, las mastitis supurativas crónicas se las ha considerado como una de las principales causas patológicas de eliminación de conejas de las granjas cunícolas (Segura y col., 2007).

Las mastitis pueden ocurrir en cualquier momento durante la lactación y la vida de las conejas. Hay animales que quedan infectadas en su primera lactación y otras pueden producir varias camadas antes de infectarse o, por supuesto, no hacerlo en toda su vida productiva. Las conejas que se recuperan son, a menudo, reinfectadas durante una siguiente lactación (Adlam y col., 1976). Los animales con un historial de reinfecciones, frecuentemente desarrollan pododermatitis y ocasionalmente también artritis. No obstante, muchos de los animales se recuperan lentamente (Adlam y col., 1976). Este hecho podría constituir una tentación al ganadero que, al no eliminar al animal, estaría dejando un posible portador de *S. aureus* en la granja.

Cuando la mastitis es contraída de forma precoz durante la lactación, las camadas normalmente se pierden. Las

conejas que se recuperan tras la enfermedad frecuentemente rehúsan el apareamiento natural o amamantar nuevos gazapos. En tales ocasiones, se producen importantes pérdidas económicas derivadas de la enfermedad. Se ha señalado que el número de conejas con enfermedad activa en cualquier momento del año puede oscilar entre 4 y 19% de las conejas en lactación (Adlam y col., 1976).

Se pueden diferenciar claramente dos formas de presentación clínica de las mastitis estafilocócicas: aguda o gangrenosa y crónica o purulenta. En la forma aguda o gangrenosa, una o más glándulas mamarias aparecen calientes, enrojecidas e hinchadas, tendiendo a aparecer cianóticas en las fases avanzadas de la infección. Por esta razón recibe el nombre de "mama azul". El tejido mamario adquiere un aspecto edematoso y hemorrágico. Este tipo de mastitis se puede extender rápidamente por la granja y las camadas de las hembras afectadas habitualmente mueren por inanición (Zumpt, 1976; Adlam y col., 1977; Holliman y Girvan, 1986); la coneja suele morir al cabo de algunas horas o sobrevivir y desarrollar una mastitis crónica (Zumpt, 1976). La forma crónica o purulenta se caracteriza por un engrosamiento o endurecimiento del tejido mamario alrededor o cerca de uno o más pezones. Los animales infectados desarrollan abscesos de tamaño variable (2-10 cm) en el tejido mamario, en un periodo de 2-3 semanas. Estos abscesos descargan pus o desarrollan lesiones más crónicas que con frecuencia contienen material caseoso estéril (la autoesterilización es una consecuencia frecuente de las lesiones purulentas crónicas). Las conejas aparecen letárgicas y en ocasiones son incapaces de amamantar a sus gazapos (Adlam y col., 1976).

Adicionalmente, se ha descrito un tipo especial de mastitis que no es la característica "mama azul". Suele ser más superficial y se caracteriza por una inflamación supurativa de la piel cerca de los pezones. La inflamación del tejido profundo únicamente se observa en algunos casos (Okerman y col., 1984). Este tipo de lesiones se han definido histológicamente como celulitis y se caracterizan por presentar un infiltrado inflamatorio subcutáneo que puede llegar a rodear al tejido mamario por completo, en cuyo caso suele provocar su necrosis por coagulación. Se ha sugerido que estos casos podrían deberse a lesiones en la piel del pezón, debido a traumatismos que permiten la entrada de la bacteria (Viana y col., 2011).

No existe bibliografía que describa las características histológicas de la mastitis estafilocócica aguda en casos naturales. Sí que existen algunos artículos donde la describen de forma experimental. En estos casos, tras 48 horas de infección, se observan agrupaciones de bacterias en alveolos mamarios, sin que haya una respuesta celular o, más frecuentemente, se produce una involución de los alveolos mamarios que se encuentran tapizados por células mononucleares y células epiteliales descamadas. A los 4 días de la infección los alveolos están tapizados por células epiteliales comprimidas como consecuencia de la proliferación de neutrófilos (llamados heterófilos en conejos). Por el contrario, en los casos de mastitis crónicas se observan gran cantidad de heterófilos dentro de los alveolos mamarios. Algunos aparecen repletos de estas células mientras que otros están normales o contienen pocas células. En lesiones antiguas, extensas áreas de tejido mamario aparecen degeneradas y pueden observarse gran cantidad de bacterias (Adlam y col. 1976).

Viana y col. (2011) describieron el espectro lesional de las mastitis crónicas provocadas por *S. aureus* en conejos. Clasificaron las mastitis cunícolas en cuatro tipos: abscesos (66,3%), mastitis supurativas con patrón lobular (7,9%), celulitis (19,6%) y lesiones mixtas (6,2%). El aspecto microscópico de las lesiones clasificadas como "mastitis supurativas con patrón lobular" sugería que el sistema inmune de los conejos no era capaz de controlar la infección y esta se diseminaba por el tejido mamario. Por el contrario las lesiones tipo absceso se encontraban delimitadas por tejido necrótico, en las fases más inmaduras, y por una gruesa cápsula de tejido fibroso en las más maduras, considerándose bajo control. Estos autores indicaron que no habría una relación entre el genotipo de *S. aureus* y el tipo de lesión. Es decir, cualquier genotipo podría provocar cualquier tipo de lesión (Viana y col., 2001). Por lo tanto, parece claro que en el desarrollo de las lesiones y en la evolución de las estafilococias es muy importante no sólo la bacteria sino también el sistema inmunológico del conejo.

Las muestras tomadas de tejidos gangrenosos a cierta distancia del lugar de inoculación experimental son frecuentemente estériles, sugiriendo que las lesiones son producidas por la liberación de toxinas más que por la proliferación de bacterias (Adlam y col., 1976). De hecho, se ha descrito que la alfa-toxina juega un importante papel en la patogénesis de la forma hemorrágica ("mama azul") de la mastitis en conejos en brotes naturales de la enfermedad. En estos casos, se ha asociado títulos altos de suero anti-alfa toxina con la protección frente a esta forma letal de mastitis, aunque solamente provocando la modificación de los signos clínicos hacia una forma menos severa y generando abscesos crónicos (Adlam y col. 1977). Además, y en contraste con las mastitis crónicas, no se observan heterófilos en el tejido mamario (Adlam y col., 1976). Aparentemente si la cepa de *S. aureus* es capaz de producir suficiente alfa-toxina para destruir a los heterófilos, la enfermedad se transforma en gangrenosa (Adlam y col., 1977), y la infección progresa más rápidamente, resultando en una forma aguda de la mastitis. Sorprendentemente, según estos autores (Adlam y

col., 1976), las cepas de *S. aureus* que únicamente provocan mastitis purulentas crónicas, cuando se utilizan en infecciones experimentales inducen lesiones agudas y gangrenosas. En nuestra experiencia esto puede estar relacionado con el elevadísimo número de bacterias generalmente empleado en las infecciones experimentales (del orden de decenas de millones) en comparación con el presumible reducido número que accede al interior del hospedador en casos naturales (Corpa JM. Comunicación personal).

La glándula mamaria es altamente susceptible a la infección pero únicamente cuando está lactante (Adlam y col., 1976). La razón de esta hipersusceptibilidad permanece desconocida pero podría estar asociada con la incapacidad de los heterófilos de la leche para destruir a los estafilococos (Russell y Reiter, 1975). Los glóbulos de grasa y caseína de la leche podrían inhibir la fagocitosis y la destrucción de *S. aureus* por los heterófilos (Paape y Wergin, 1977).

Abscesos

A veces, la presencia de abscesos es la principal lesión asociada con la infección estafilocócica (Devriese y col., 1996). En animales con abscesos, la tasa de muerte durante el periodo de engorde no es mucho mayor al normal (menos del 10%) (Okerman y col., 1984), pero en ocasiones esto puede cambiar. En dos granjas comerciales ocurrió un brote de estafilococosis en el que aparecieron abscesos subcutáneos en animales de 2-3 semanas de edad y un elevado número de ellos murieron. También hubo una elevada incidencia de mastitis entre las hembras reproductoras. El examen *postmortem* reveló abscesos en pulmones, subcutáneos e interdigitales (Carolan, 1986). Esta condición ha sido descrita como una de las principales causas de eliminación de machos en nuestro país (Rosell y de la Fuente, 2009).

Los abscesos se ocasionan a partir de infecciones traumáticas (mordeduras de insectos, arañazos por otros conejos, heridas causadas por suelos abrasivos (paja, ausencia de reposapatatas,...) (Marcato y Rosmini, 1986) y se producen en conejos de todas las edades (Segura y col., 2007). Los signos clínicos más precoces se pueden observar en gazapos de 2 días y se caracterizan por lesiones purulentas en los dedos de las patas delanteras. Normalmente las lesiones son detectadas en las extremidades anteriores en la primera semana de vida. También se encuentra frecuentemente en la base de las uñas, piel de la cabeza y alrededor de los orificios nasales y papada. Al destete, alrededor de los 30 días de edad, se pueden observar pequeños abscesos en la espalda y en los flancos (Devriese y col., 1996). En un estudio colateral realizado por nuestro grupo se observó que el 78,5% de las conejas con estafilococias presentaban abscesos, siendo el cuello la localización afectada con mayor frecuencia (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución anatómica de los abscesos detectados en conejas con estafilococosis.

| Localización anatómica | Número |
|------------------------|--------|
| Cuello dorsal | 17 |
| Cuello ventral | 8 |
| Zona lumbar | 7 |
| Espalda | 6 |
| Patatas | 5 |
| Mandíbula | 3 |
| Abdomen | 2 |
| Orificios nasales | 1 |
| TOTAL | 49 |

En campo, los abscesos pueden aparecer como nódulos esféricos de tamaño variable. Son móviles, si son de localización subcutánea, y contienen abundante pus de color blanco-amarillento. El tejido subcutáneo alrededor del absceso suele aparecer cianótico debido a las alteraciones circulatorias locales que provoca la presión del absceso al ir creciendo, pudiendo llegar a provocar necrosis y ulceración de la piel. Dependiendo de su localización, los abscesos subcutáneos pueden llegar a causar, en los casos más graves, severas alteraciones metabólicas que dan lugar a pérdida de peso, caquexia y muerte (Marcato y Rosmini, 1986).

Microscópicamente, los abscesos están formados por tres componentes: (1) una masa central de heterófilos degenerados sufriendo necrosis por licuefacción; (2) una capa intermedia de tejido reactivo infiltrado por heterófilos, macrófagos y linfocitos; (3) y una capa externa (cápsula) de tejido conectivo (Marcato y Rosmini, 1986).

Pododermatitis o “mal de patas”

La pododermatitis es una de las causas más habituales de eliminación tanto de conejas como de machos (Rosell y de la Fuente, 2009, 2013). Okerman y col. (1984) aislaron *S. aureus* del 95% de las conejas con pododermatitis. Esta lesión se debe a un fallo en la protección del animal frente al suelo de la jaula (Drescher y Schlender-Böbbs, 1996). Existen numerosos factores predisponentes incluyendo suelos de alambre (sobre todo si hay partes afiladas), factores genéticos (razas pesadas), varios agentes bacterianos (responsables de la severidad de las lesiones) y acumulación de orina en las camas, que favorece la maceración cutánea (Marcato y Rosmini, 1986; Rosell y de la Fuente, 2013). Se ha sugerido que *S. aureus* invade lesiones traumáticas primarias en animales jóvenes (a veces, menores de 3 meses de edad, aunque sean razas resistentes y suelos en buenas condiciones) (Okerman y col., 1984). En ocasiones, los conejos reproductores adultos sufren altas incidencias de pododermatitis (Okerman y col., 1984), acompañada por múltiples abscesos interdigitales (Holliman y Girvan, 1986).

Las lesiones comienzan con una hiperplasia de la epidermis (paraqueratosis). A continuación se desarrolla necrosis isquémica debido a la presión de la piel, que podría ulcerarse. Las lesiones pueden infectarse con *S. aureus* lo que provoca el desarrollo de abscesos debajo de los restos costrosos que cubren la ulceración (Marcato y Rosmini, 1986). Las lesiones necrótico-gangrenosas y ulcerativas son más frecuentes en las extremidades posteriores que en las anteriores (Marcato y Rosmini, 1986). En concreto, se afectan las epífisis de los huesos metatarsianos debido a que sufren una mayor isquemia por presión, aunque la necrosis raramente afecta a toda la pata (Marcato y Rosmini, 1986).

Otras lesiones asociadas con *S. aureus*

Tortícolis

Esta infección crónica del oído suele deberse a *S. aureus* y/o *Pasteurella multocida* normalmente secundaria a una infestación por ácaros. Ocurre en condiciones de poca higiene y es diseminada por animales portadores. Las primeras fases de la enfermedad se caracterizan por rascado periódico de una o dos orejas, acompañado de movimiento de la cabeza. Conforme el proceso se hace más severo los signos se incrementan. Finalmente, la cabeza adquiere una posición ladeada lo que provoca una mayor dificultad para alimentarse y los conejos afectados mueren por inanición (Zumpt, 1976).

Infecciones del tracto genital de las conejas

Estas infecciones pueden deberse tanto a *S. aureus* como *P. multocida*. Son habituales en algunas granjas y normalmente se asocian con elevadas incidencias de mastitis (Zumpt, 1976). *S. aureus* se ha aislado del 15,9% de los animales con piometra (Segura y col., 2007). La presencia de metritis supurativa estafilocócica se ha asociado con elevada mortalidad neonatal (Holliman y Girvan, 1986) ya que son habituales los abortos completos o incompletos y tales animales suelen morir (Zumpt, 1976). Las conejas habitualmente presentan una descarga vaginal purulenta y muestran un apariencia letárgica (Zumpt, 1976).

Bajo las condiciones apropiadas, *S. aureus* puede provocar lesiones en otras localizaciones (Segura y col., 2007). En un estudio realizado en conejas el 30,8% de los casos de neumonía estaban asociados con infecciones por *S. aureus* (Segura y col., 2007). Esta bacteria también ha sido aislada de casos de artritis (Viana y col., 2007) y conjuntivitis (Holliman y Girvan, 1986; Viana y col., 2007).

Diagnóstico y control

El diagnóstico de las estafilococias generalmente se realiza mediante el aislamiento de la bacteria de las lesiones. Tras el crecimiento en medio de cultivo con sangre ovina y bovina, las colonias típicas de *S. aureus* muestran un color blanco-amarillo característico. Prácticamente todos los *S. aureus* tienen propiedades hemolíticas pudiendo producir hemolisinas alfa, beta, gamma y delta. Las hemolisinas alfa y delta proporcionan una zona clara alrededor de la colonia bacteriana. La producción adicional de beta hemolisina es la responsable de una zona más externa de hemólisis incompleta o más bien una decoloración con bordes bien demarcados. El test de la ADNasa se utiliza para confirmar la especie (Devriese y Hajek, 1980). *S. aureus*, en principio, es la única especie de estafilococo ADNasa positivo que afecta a los conejos (Devriese y col., 1981). Es recomendable distinguir entre cepas de alta o baja virulencia para completar el diagnóstico. Como se ha indicado, hasta hace unos años, este diagnóstico se hacía mediante biotipado seguido de un laborioso fagotipado. Un método más sencillo y rápido, utilizando la técnica de PCR fue descrita por Vancaeynest y col. (2007). Esta prueba se basaba en la detección de los genes *bbp* y *selm*, que han sido descritos

únicamente en las cepas de alta virulencia (Vancraeynest y col., 2004; 2006b). Una tercera diana es una secuencia denominada "flank", derivada de un patrón RAPD específico de cepas altamente virulentas (Hermans y col., 2001). Además, el gen *femA*, específico para *S. aureus* (Vannuffel y col., 1995) se puede incorporar para evitar falsos negativos, en el caso de disponer de insuficiente ADN. La técnica de PFGE también puede emplearse para identificar cepas muy virulentas pero es una técnica muy costosa.

En los últimos años nuestro grupo ha empleado la técnica MLST (Multilocus Sequence Typing) que compara 7 genes altamente conservados de *S. aureus*, asignando el mismo número "ST" a cepas pertenecientes al mismo origen clonal y números diferentes cuando sufren mutaciones y se van distanciando filogenéticamente. También empleamos el tipado molecular, basado en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) de los genes *coa*, *spa* y *clfb*. Con esta técnica se obtiene el genotipo, denominado como una combinación de letras latinas, números y letras griegas. Estas dos técnicas (MLST y RFLP) se complementan y son necesarias para hacer una óptima identificación de cada cepa de *S. aureus*.

El clon de *S. aureus* más frecuente en cunicultura es el ST121 (considerado como de alta virulencia), seguido del clon ST96 (considerado como de baja virulencia), con una prevalencia mucho más baja. A su vez, el genotipo más habitual es el A1 III δ , que se incluye dentro del clon ST121 (Viana, 2009; Pérez-Fuentes et al., 2016). En los últimos años han aparecido nuevos clones y genotipos como se ha podido comprobar en varias comunicaciones expuestas en el presente Symposium de ASESCU.

Los conejos afectados por cepas poco virulentas podrían ser tratados mediante el drenaje y limpieza de los abscesos subcutáneos en combinación con la administración de agentes antimicrobianos. No obstante, este tratamiento está restringido, por razones evidentes, a las mascotas y no ha lugar en granjas cunícolas comerciales.

El tratamiento efectivo de los animales infectados con cepas muy virulentas de *S. aureus* no es posible. Se ha descrito que la limpieza y desinfección generalizada de las jaulas y materiales, junto con tratamientos antimicrobianos tales como 800 mg tetraciclina HCl por kg de pienso, durante un periodo de 7 días, podría reducir la enfermedad y la mortalidad. No obstante, estas medidas no eliminan la bacteria de la granja y tras cesar el tratamiento los problemas regresan de nuevo (Carolan, 1986; Holliman y Girvan, 1986; Devriese y col., 1987; Rossi y col., 1995). El sacrificio de animales enfermos o sospechosos es incluso menos efectivo (Devriese y col., 1987; Devriese y col., 1996). La única solución tras la entrada de una cepa altamente virulenta de *S. aureus* en una granja es el sacrificio de todos los animales, limpiar y desinfectar las instalaciones y comenzar de nuevo con conejos procedentes de una granja sin estafilococias.

La prevención de la entrada de *S. aureus* de alta virulencia es tan importante como difícil. Es necesario un control estricto en la llegada de nuevos animales y limitar el contacto entre granjas. Con ello se podría disminuir el riesgo de infección (Devriese y col., 1987; Devriese y col., 1996). En la actualidad, este es el método más factible de lucha contra la estafilococosis.

Los nuevos animales deberían ser muestreados para confirmar que están libres de cepas altamente virulentas, previamente a ser introducidos en la granja. Los lugares más habituales para portar *S. aureus* son las fosas nasales, la oreja, la piel interdigital de la extremidad anterior, axila, región inguinal, alrededor de los pezones, periné, vagina y prepucio. Los conejos portadores suelen ser positivos en 1 a 9 de estas localizaciones (Hermans y col., 1999). Se debería, por lo tanto, tomar el mayor número de muestras económicamente posible para evitar falsos negativos. Si únicamente decidimos tomar una muestra por animal, el periné parece ser la zona de elección ya que es la que aparece colonizada con mayor frecuencia (Hermans y col., 1999). Las muestras deberían ser inoculadas en un medio con agar sangre no selectivo, así como en uno selectivo como el medio Baird-Parker modificado (Devriese, 1981), ya que existe abundante microflora contaminante que podría dificultar la identificación de *S. aureus* (Hermans y col., 1999).

Varios autores han descrito estudios en conejos con bacterinas frente a estafilococias (Hinton, 1977; Cameron y col., 1979; Matthes, 1995; Rossi y col., 1995; Meulemans y col., 2008). Estas vacunas podrían inducir una protección parcial frente a una infección experimental con *S. aureus*. En condiciones de campo se utilizan vacunas autógenas con resultados discutibles. Si tenemos en cuenta que la patogénesis de las infecciones por *S. aureus* es altamente compleja no es sorprendente que los resultados obtenidos con estas vacunas sean heterogéneos.

En la actualidad el desarrollo de una vacuna eficaz contra la estafilococosis es una cuestión difícil, ya que se desconocen qué antígenos son importantes para la protección frente a la infección. Por lo tanto, es necesario realizar más investigaciones en este campo.

Agradecimientos

El grupo de Patología y Sanidad Animal del Instituto de Investigación CEU de Ciencias Biomédicas (Universidad CEU Cardenal Herrera -Facultad de Veterinaria-) ha sido financiado, desde 2002, por numerosos proyectos y becas de investigación del MINECO (AGL2008-00273/GAN, AGL2011-30170-CO2-02, AGL2014-53405-C2-2-P), Ministerio de Educación Cultura y Deporte (AP201 0-3907), la Unión Europea (PO FEDER 2007-2013), la Generalitat Valenciana (GV05/202, ARVIV/2007/007, ACOMP/2009/207, ACOMP/2010/062, GV/2015/090, Programa Santiago Grisolia) y la Universidad CEU Cardenal Herrera sin los cuales nos hubiera sido imposible trabajar durante todos estos años. No menos importante es el apoyo y colaboración incondicional que nos han mostrado multitud de veterinarios, técnicos y ganaderos permitiéndonos el acceso a granjas y muestras. Con nuestro trabajo deseamos devolver, en forma de resultados y avances científicos, la confianza que unos y otros han puesto en nosotros.

Bibliografía

- Adlam C., Thorley C.M., Ward P.D., Collins M., Lucken R.N., Knight P.A. 1976. Natural and experimental staphylococcal mastitis in rabbits. *J. Comp. Pathol.*, 86: 581-593.
- Adlam C., Ward P.D., McCartney A.C., Arbuthnott J.P., Thorley C.M. 1977. Effect of immunization with highly purified alpha- and betatoxins on staphylococcal mastitis in rabbits. *Infect. Immun.*, 17: 250-256.
- Cameron C.M., Fuls W.J., Botha W.F. 1979. Composition and evaluation of the efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccine. *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 46: 1-8.
- Carolan M.G. 1986. Staphylococcosis in rabbits. *Vet. Rec.*, 119: 412.
- Cucarella C., Tormo M.A., Ubeda C., Trotonda M.P., Monzón M., Peris C., Amorena B., Lasa I., Penadés J.R. 2004. Role of bio-film associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.*, 72: 2177-2185.
- Devriese L.A. 1984. A simplified system for biotyping *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species. *J. Appl. Bact.*, 56: 215-220.
- Devriese L.A., Hajek V. 1980. Identification of pathogenic staphylococci isolated from animals and foods derived from animals. *J. Appl. Bact.*, 49: 1-11.
- Drescher B., Schlender-Böbbs I. 1996. Étude pathologique de la pododermatite chez les lapins reproducteurs de souche lourde sur grillage. *World Rabbit Sci.*, 4: 143-148.
- Devriese L.A. 1981. Baird-Parker medium supplemented with acriflavine, polymyxins and sulphonamide for the selective isolation of *Staphylococcus aureus* from heavily contaminated materials. *J. Appl. Bacteriol.*, 50:351-357.
- Devriese L.A., Godard C., Okerman L., Renault L. 1981. Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. *Ann. Rech. Vet.*, 12: 327-332.
- Devriese L.A., Hendrickx W., Godard C., Okerman L., Haesebrouck F. 1996. A new pathogenic *Staphylococcus aureus* type in commercial rabbits. *J. Vet. Med. B.*, 43: 313-315.
- Devriese L.A., Okerman L., Maertens L., Okerman F., Godard C. 1987. Infecties met een speciaal konijn-pathogeen *Staphylococcus aureus* biotype op een konijnen proefbedrijf: resultaten van behandelingen en eradicatiepogingen. *Landbouwtijdschrift*, 5: 1243-1245.
- Flatt R.E. 1974. *The biology of the laboratory rabbit*. Weisbroth S.H., Flatt R.E., Kraus A.L. (ed). Academic press, New York, USA.
- Hagen K.W. Jr. 1963. Disseminated staphylococcal infection in young domestic rabbits. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 14: 1421-1422.
- Hermans K., De Herdt P., Devriese L.A., Hendrickx W., Godard C., Haesebrouck F. 1999. Colonization of rabbits with *Staphylococcus aureus* in flocks with and without chronic staphylococcosis. *Vet. Microbiol.*, 67: 37-46.
- Hermans K., Haesebrouck F., Vanechoutte M., Devriese L.A., Godard C., De Herdt P. 2000. Differentiation between high- and

- low virulence Staphylococcus aureus strains from rabbits by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Vet. Microbiol., 72: 311-319.*
- Hermans K., De Herdt P., Baele M., Devriese L.A., Haesebrouck F. 2001. Sequence analysis of a RAPD band differentiating high and low virulence *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. *Vet. Microbiol., 82: 61-67.*
- Hermans K., Devriese L.A., Haesebrouck F. 2003. Rabbit staphylococcosis: Difficult solutions for serious problems. *Vet. Microbiol., 91: 57-64.*
- Hinton M. 1977. Treatment of purulent staphylococcal conjunctivitis in rabbits with autogenous vaccine. *Lab. Anim., 11: 163-164.*
- Holliman A., Girvan G.A., 1986. Staphylococcosis in a commercial rabbitry. *Vet. Rec., 119: 187.*
- Marcato P.S., Rosmini R. 1986. Pathology of the rabbit and hare. Società Editrice Esculapio, Bologna, Italy.
- Matthes S. 1995. Staphylokokkeninfektionen bei Kaninchen und Pelztieren. 9. Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztiere und Heimtiere, Celle, 242-250.
- Meulemans G., Hermans K., Duchateau L., Haesebrouck F. 2007. High and low- virulence *Staphylococcus aureus* strains in a rabbit skin infection model. *Vet. Microbiol., 125: 333-340.*
- Meulemans L., Hermans K., Lipinska U., Duchateau L., Haesebrouck F. 2008. Possible protective effect of an autovaccine against high virulence *Staphylococcus aureus* in a rabbit skin infection model. In Proc.: 9th World Rabbit Congress, 10-13 June, 2008. Verona, Italy. 293.
- Mork T., Tollersrud T., Kvitle B., Jorgensen H. J., Waage S. 2005. Genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from ovine intramammary infections in Norway. *Vet. Microbiol., 106: 265-273.*
- Okerman L., Devriese L.A., Maertens L., Okerman F., Godard C. 1984. Cutaneous staphylococcosis in rabbits. *Vet. Rec., 114: 313-315.*
- Paape M.J., Wergin W.P. 1977. The leukocyte as a defence mechanism. *J. Am. Vet. Med. Assoc., 170: 1214-1223.*
- Parker M.T. 1962. Phage typing and the epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection. *J. Appl. Bact., 25: 389-402.*
- Pérez-Fuentes S., Muñoz-Silvestre A., Viana D., Corpa J.M., Selva L. 2016. Importancia del tipado de *Staphylococcus aureus*: origen, virulencia y evolución de las cepas. En: 41 Symposium de Cunicultura. Hondarribia, pp. 117-120 España.
- Rosell J.M. 2000. Enfermedades del conejo. Tomo II. Mundi Prensa, Madrid, Spain.
- Rosell J.M., de la Fuente L.F. 2009. Culling and mortality in breeding rabbits. *Prev. Vet. Med., 88: 120-127.*
- Rosell J.M., de la Fuente L.F. 2013. Assessing ulcerative pododermatitis of breeding rabbits. *Animals (Basel), 3: 318-26.*
- Rossi G., Stanzel C., Witte W. 1995. *Staphylococcus aureus* infections in the rabbit and the transmission of the pathogens with the sperm. 9. Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztiere und Heimtiere, Celle, 251-257.
- Russell M.W., Reiter B. 1975. Phagocytic deficiency of bovine milk leucocytes: An effect of casein. *J. Reticuloendothel. Soc., 18: 1-13.*
- Segura P., Martínez J., Peris B., Selva L., Viana D., Penadés J., Corpa J.M. 2007. Staphylococcal infections in rabbit does on two industrial farms. *Vet. Rec., 160: 869-872.*
- Vancraeynest D., Hermans K., Haesebrouck F. 2004. Genotypic and phenotypic screening of *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits for biofilm formation and MSCRAMMS. *Vet. Microbiol., 103: 241-247.*
- Vancraeynest D., Hermans K., Haesebrouck F. 2006b. Prevalence of genes encoding exfoliative toxins, leucotoxins and supe-

- rantigens among high and low virulence rabbit *Staphylococcus aureus* strains. *Vet. Microbiol.*, 117: 211-218.
- Vancraeynest D., Haesebrouck F., Deplano D., Denis O., Godard C., Wildemaue C., Hermans K., 2006a. International dissemination of a high virulence rabbit *Staphylococcus aureus* clone. *J. Vet. Med. B.* 53: 418-422.
- Vancraeynest D., Haesebrouck, F., Hermans K. 2007. Multiplex PCR for the detection of high-virulence *Staphylococcus aureus* strains from rabbits. *Vet. Microbiol.*, 121: 368-372.
- Vannuffel P., Gigi J., Ezzedine H., Vandercam B., Delmee M., Wauters G., Gala J. 1995. Specific detection of methicillin-resistant *Staphylococcus* species by multiplex PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 33:2864-2867.
- Viana D. 2009. *Estafilococia en conejos: relación entre genotipos, virulencia y lesiones (Tesis Doctoral)*. Moncada, Valencia: Universidad CEU Cardenal Herrera. Facultad de Veterinaria.
- Viana D., Selva L., Segura P., Penadés J.R., Corpa J.M. 2007. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from rabbit lesions. *Vet. Microbiol.*, 121: 288-298.
- Viana D., Comos M., McAdam P.R., Ward M.J., Selva L., Guinane C.M., González-Muñoz B.M., Tristan A., Foster S.J., Fitzgerald J.R., Penadés J.R. 2015. A single natural nucleotide mutation alters bacterial pathogen host tropism. *Nat. Genet.*, 47: 361-366.
- Viana D., Selva L., Callanan J.J., Guerrero I., Ferran S., Corpa J.M. 2011. Strains of *Staphylococcus aureus* and pathology associated with chronic suppurative mastitis in rabbits. *Vet. J.*, 190: 403-407.
- Zumpt I.F. 1976. Some diseases of domestic rabbits encountered in the western Cape. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 57: 117-122.

Las organizaciones de productores en cunicultura. Motivaciones, regulación y conexiones con la realidad del sector productivo de carne de conejo

Rabbit producers' organisations. Motivations, regulation and connections with the reality of the productive sector of rabbit meat

Montero L.*, Buitrago J.M., Escribá C., Baviera A.

Departamento de Economía y Ciencias Sociales, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España

** Dirección de contacto: luimonvi@esp.upv.es*

Resumen

Tanto la Unión Europea como el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA) son conscientes de los desequilibrios que se producen en las cadenas de valor de distintos sectores agroalimentarios, y por ello han establecido medidas y acciones que buscan reequilibrarlos. Estas instituciones coinciden en que el sector productivo es el que se encuentra en una situación de mayor debilidad siendo las Organizaciones de Productores (OP) una de las herramientas propuestas para mejorar su situación. El sector productivo de conejos en España es uno de los que más se ha visto afectado por los desequilibrios de su propia cadena de valor. Dos han sido los Reales Decretos (RD) de medidas para el apoyo de los productores de carne de conejo, el *Real Decreto 541/2016, de 25 de noviembre, por el que se regula el reconocimiento de las organizaciones de productores y sus asociaciones en el sector cunícola* y el *Real Decreto 350/2016, de 7 de octubre, por el que se establecen las bases reguladoras de ayudas para el fomento de la creación de organizaciones de productores de carácter supraautonómico en el sector agrario*. En este trabajo se han analizado ambas normativas y posteriormente, se han entrevistado a distintos actores de la cadena de valor cunícola para conocer el nivel de alineación de la normativa con la realidad del sector. Se concluye que los requisitos marcados en las normas que regulan el reconocimiento de Organizaciones de Productores en Cunicultura (OPC) y la concesión de ayudas para su fomento, suponen un nuevo modelo que implicará un cambio de paradigma en la producción, cuyo objetivo será alinearse con la realidad de la economía actual y reequilibrar la cadena de valor cunícola de cara a la mejora técnica y económica del eslabón productivo.

Palabras clave: cadena de valor, organización de productores, producción cunícola, PAC, MAPAMA.

Abstract

Both the European Union and the Spanish Ministry of Agriculture and Fisheries, Food and Environment (MAPAMA) are aware of the imbalances that value chains produce in different agricultural sectors, and therefore, they have established measures and actions that seek to rebalance them. These institutions recognize that the productive sector is in a greater weakness situation, and the Producers' Organisations (OPs) are one of the proposed tools to improve it. The productive sector of rabbit in Spain is one of the most affected by the imbalances of its own value chain. The Spanish government has published two Royal Decrees (RD) of measures to support rabbit meat producers. The Royal Decree 541/2016 of 25 November, which regulates the recognition of producers' organisations and their associations in the cunícola sector and the Royal Decree 350/2016, of 7 October, which establishes the regulatory bases of grants for the promotion of new inter-regional organisations of producers in the agricultural sector. In this research, both regulations have been analysed and later, different actors of the rabbit value chain have been interviewed to know the level of alignment of the legislation with the reality of the sector. It is concluded that the requirements set out in the rules governing the recognition of Rabbit Producers' organisations (OPC) and the granting of subsidies for their development, may cause a new model that will involve a paradigm shift in production, whose strategic objective will be the adjustment to the reality of the current world economy and rebalance the rabbit value chain in order to improve the farmers both technically and economically.

Keywords: value chain, producers' organisations, rabbit production, European Agricultural Policy, Ministry of Agriculture and Fisheries, Food and Environment.

Introducción

El sector de la carne de conejo español está inmerso en una situación de incertidumbre que afecta a los principales actores de su cadena de valor, los productores y la industria transformadora representada en los mataderos (Asescu, 2016). Muchos ganaderos han sufrido los vaivenes de los precios (Asescu, 2017), que provocan la falta de seguridad e ilusión en el futuro de su actividad productiva. Paradójicamente, la industria transformadora en general no ha conseguido ampliar su punto de vista en cuanto a la organización del sector y sigue sin encontrar estrategias que permitan organizar al resto de integrantes en base a las demandas reales de carne de conejo y productos afines. Además, la estabilización o incluso descenso en el consumo de esta carne y los indicios que indican el mantenimiento de esta tendencia (MAPAMA, 2017), hacen que por parte de las autoridades se haya considerado al sector cunícola como un sector objetivo para la aplicación de determinadas medidas de apoyo previstas en la PAC (Europa Press, 2017).

En noviembre de 2016 el MAPAMA publicó el Real Decreto 541/2016, de 25 de noviembre, por el que se regula el reconocimiento de las organizaciones de productores y sus asociaciones en el sector cunícola (BOE, 2017a). Este RD supuso el fin de un largo proceso iniciado por los representantes del sector cunícola en España, cuya finalidad era demostrar y hacer eco a las autoridades de la difícil situación que está atravesando la parte productiva. La propia Política Agraria Común (PAC) considera que las organizaciones de productores son una de las propuestas más adecuadas para equilibrar las relaciones que se establecen entre los distintos actores de las cadenas alimentarias, principalmente entre producción, industria y distribución comercial (DOUE, 2013). Los desequilibrios presentes en numerosas cadenas de valor alimentarias se trasladan aguas arriba y se concentran en el eslabón productivo, haciendo que éste resulte ser el más débil de la misma. Estos desequilibrios surgen por una parte, como consecuencia de las estrategias que adopta la gran distribución y por otra parte, de la atomización de la oferta productiva, que en muchos casos se encuentra dividida e incapaz de organizarse por sí misma para adoptar medidas de reequilibrio de la cadena (Montero *et al.*, 2015). Es precisamente la falta de organización de los productores lo que provoca que no sean capaces de enfrentarse a los efectos de la globalización, imperante en un libre mercado volátil y capitalista, que deja en la cuneta a aquellos sectores, organizaciones y/o empresas incapaces de ser competitivas. La organización y unión de productores constituye una herramienta de primer orden para incrementar su poder en la cadena de valor y jugar con las mismas cartas en un mercado globalizado y en constante movimiento, muy distinto y diferente al que se percibe desde las explotaciones ganaderas.

Material y métodos

Para la realización de este trabajo, se han revisado exhaustivamente las normativas comunitarias y nacionales que hacen referencia a las organizaciones de productores. Se ha hecho especial hincapié en los Reales Decretos 541/2016 y 350/2016, ya que supondrán, para las OPC que se constituyan y posteriormente opten a las ayudas, un cambio de paradigma en la forma de gestionar las explotaciones industriales cunícolas a nivel productivo, comercial y administrativo. Posteriormente, se han realizado entrevistas abiertas en profundidad a distintos integrantes de la cadena de valor cunícola, principalmente productores, a los que se han expuesto los distintos puntos incluidos en los RD citados anteriormente y que pueden afectar en mayor medida a la forma actual de gestionar las explotaciones, preguntándoles su opinión al respecto. Las respuestas de los productores se han agrupado según problemática y han permitido conocer qué puntos de los marcados por los RD pueden ser más complejos de aplicar, pues implican cambios técnicos, de gestión y lo más importante, de filosofía y enfoque de la actividad productiva.

Resultados y discusión

Los modelos de cadena de valor introducidos por el economista Michael Porter a mediados de los años 80 son muy útiles para conocer el posicionamiento de cada uno de sus integrantes y conocer sus estrategias. La Cadena de Valor, comprende el conjunto de actividades interdependientes que forman parte de un proceso productivo, aportándole valor añadido en cada eslabón, desde el origen del producto o servicio hasta que llega al consumidor final (Porter, 2006).

En base al concepto de Cadena de Valor definido por Porter y aplicándolo al sector cunícola, podemos identificar los siguientes elementos: suministradores de insumos a la producción, productores, mataderos y por último

los aspectos ligados a la comercialización en sus diferentes opciones, por una parte la distribución tradicional de la cual formarían parte los mayoristas y el comercio detallista y por otra parte la gran distribución, que cuenta con plataformas logísticas que reciben la carne y la trasladan a sus establecimientos de venta (Montero et al., 2015).

Los suministradores de insumos a la producción incluyen a los proveedores de pienso, el abastecimiento de genética, los fabricantes y proveedores de medicamentos y cualquier otro agente que proporcione insumos para la cría de los animales.

El productor se encarga de los distintos procesos en la cría de conejos. Hay que destacar que se trata de una ganadería cuyo manejo integra todas las fases de la vida de un animal, a diferencia del manejo en otras ganaderías como la porcina o la avícola, donde la cría y engorde se producen en instalaciones separadas. Es por ello que la cunicultura industrial, tal como se conoce hoy en día, implica que el cunicultor sea un ganadero con un alto grado de conocimiento y experiencia, que van más allá de la actividad de engorde. El propio ganadero se dedica además, a las actividades administrativas y de comercialización de los animales vivos, que contemplan habitualmente a un único tipo de cliente, el matadero.

El matadero representa la industria transformadora. Tradicionalmente se encarga de la logística de los animales desde la granja a sus instalaciones de sacrificio. Es en esta fase en la que se obtiene el producto destinado al consumidor final, la carne de conejo, dejándola lista para su distribución. En muchas ocasiones, los mataderos integran las salas de despique y preparación de las distintas alternativas de presentación en función de las exigencias de sus clientes.

El penúltimo eslabón de la cadena es la distribución comercial, actividad que permite poner a disposición de los consumidores la carne de conejo. La distribución sigue dos vías distintas, la configuración tradicional y la configuración organizada o moderna. Es muy importante ser consciente de esta doble estructura comercial, pues influye hacia atrás en la tipología de matadero que suministra carne de conejo e incluso, puede influir en el tipo de explotación que suministra a su vez a los mataderos.

La primera vía, también denominada canal tradicional o distribución tradicional está integrada por los mayoristas que compran directamente al matadero y venden posteriormente al comercio minorista, es decir, a los establecimientos que venden *al detall* como las carnicerías, pollerías e incluso establecimientos del sector HO-RECA. Este canal de distribución se caracteriza por ofrecer productos diferenciados y especializados, un servicio personalizado y mayor información sobre el producto que comercializa. Generalmente sus proveedores son de proximidad, bien pequeños mataderos o bien mayoristas, y la relación calidad/precio suele ser alta. En lo que respecta al conocimiento del mercado y del consumidor, son establecimientos poco adaptados a las necesidades actuales del consumidor actual y realizan poca o nula actividad de marketing (Díaz, 2014).

La segunda vía, también denominada gran distribución, distribución organizada o distribución moderna está constituida por grandes empresas de distribución cuyos establecimientos pueden ser supermercados e hipermercados. Entre éstas y el matadero existe un paso previo que es la plataforma logística, propia o asociada a las centrales de compra de estas grandes empresas, que destacan por su gran capacidad de compra y negociación. Las características generales de este canal son buscar la máxima competitividad y luchar ferozmente por el consumidor. Para ello, conocen muy bien las estrategias de sus competidores y las necesidades del consumidor, adaptándose a ellas siempre que sean rentables para su negocio. Una de sus principales estrategias es la oferta y los precios bajos, incluso a costa de disminuir la calidad o prestaciones de los productos que ofrece. Para abaratar, reducen eslabones de la cadena buscando economías de escala y diseñando y comercializando marcas propias, aspecto que les lleva a coordinarse muy íntimamente con el productor/fabricante, al que asegura un gran volumen de compras. Cuentan con estrategias de marketing muy potentes que contemplan desde los estudios de consumidores hasta la creación de lobbies muy potentes (Díaz, 2014).

Al final de la cadena se encuentra el consumidor final, el verdadero objeto de deseo de todos los eslabones descritos anteriormente, ya que él proporciona el retorno de la inversión realizada para obtener y comercializar los productos que consume. El consumidor actual está inmerso en una sociedad en constante cambio y conocerlo es fundamental para adaptar los productos a sus necesidades y deseos. En general, el consumidor está preocupado por la relación calidad precio, no por el precio como coste, si bien a causa de la crisis económica, ha buscado productos más baratos, incluso a costa de reducir la calidad de los mismos. No obstante, está abierto a productos *premium* y más en el sector de la alimentación, el cual es prioritario para muchas familias, más que cualquier otra necesidad. Debido a los cambios en las tipologías de familia, una

gran proporción de la población busca opciones de compra fáciles, rápidas y concentradas, para evitar perder el tiempo. Busca una cocina fácil, pero con nuevos gustos y sabores, que le proporcione nuevas experiencias. Es un consumidor comprometido y preocupado por el medio ambiente, el bienestar animal y por su salud y apoya causas justas vinculadas al desarrollo sostenible, el respeto al medio ambiente y a aspectos culturales y de identidad territorial (Montero, 2015).

Considerando lo anterior, se ve claro que el productor queda alejado de todas estas estrategias y tendencias y que, de todos los integrantes de la cadena de valor cunícola, es la gran distribución la que acapara el máximo poder y tiene una posición dominante. Los modelos de negocio de la gran distribución hacen que sus proveedores se alineen en la misma estrategia y que para ello, adopten sus mismos recursos para incrementar su competitividad: reducir márgenes y eslabones en la cadena de valor en base a aplicar procesos de reingeniería técnica y económica (Rifkin, 2014). Esto provoca un efecto muy claro en el sector cunícola, la co-existencia de un número pequeño de grandes mataderos cuyo principal negocio es ser proveedores de la gran distribución y de un mayor número de pequeños mataderos cuyo principal negocio es el mercado tradicional en retroceso (Langreo y Benito, 2010). Esto también implica que se abandonen nichos de mercado existentes a costa de orientar la producción hacia el conejo industrial demandado por la gran distribución, en un diseño de producto que se vincula más a las estrategias de la gran distribución que a las verdaderas necesidades del consumidor actual, reduciendo prácticamente a un monoproducto la oferta actual de carne de conejo en España. Por tanto y en vista de la estructura del sector cunícola, queda claro la necesidad de aplicar políticas de apoyo para reactivar la industria productora de conejo.

Como se ha comentado en la introducción, una de las líneas prioritarias de la Unión Europea en materia de desarrollo rural es la creación de organizaciones de productores, cuya finalidad es corregir los desequilibrios de la cadena de valor en base a *"la adaptación de la producción a las exigencias del mercado, la comercialización conjunta de la producción de sus asociados, el establecimiento de normas comunes relativas a la información de la producción y el desarrollo de competencias empresariales y comerciales"* (BOE, 2017b).

Es por ello que el MAPAMA, a través de dos Reales Decretos citados anteriormente, ha sentado las bases para apoyar este tipo de organizaciones en el sector cunícola. En primer lugar, mediante el reconocimiento de las organizaciones de productores en cunicultura en base a lo estipulado en el Real Decreto 541/2016. En segundo lugar, mediante el Real Decreto 350/2016, que fomenta la creación de organizaciones de productores mediante una convocatoria de ayudas que, si bien es general para todas las OP reconocidas en otros sectores agrarios, son también de aplicabilidad para todas las OPC que se puedan constituir y reconocer.

El RD 541/2016 contempla en su preámbulo *"la necesidad de equilibrar la cadena de valor en este sector, mejorando la posición del productor como eslabón más débil de la misma"* Por tanto, transfiere el reconocimiento de la PAC a las organizaciones de productores, al considerarlas *"elementos clave de cooperación y desarrollo sectorial a través de la realización de una serie de finalidades entre las que destacan la concentración de la oferta y comercialización en común de la producción de sus miembros, la planificación de la oferta conforme a la demanda, la optimización de los costes de producción y, en general, conseguir ganancias de eficiencia en toda la cadena de producción, transformación y comercialización de la carne de conejo, que deseablemente se trasladen al consumidor final"*. Todo ello en el marco de una organización creada *"a iniciativa de los productores y con un funcionamiento democrático"*.

El Artículo 3. *Finalidades y requisitos mínimos de las organizaciones de productores*, apartado d) del propio RD indica entre los requisitos para ser reconocidas como OPC que *"Persigan una mejora de la eficiencia productiva, previsiblemente trasladable a los consumidores, mediante un incremento del poder de negociación, la reducción de riesgos propios del sector agrario, el acceso al mercado, el aprovechamiento de economías de escala y, al menos, una de las siguientes finalidades:*

1º *Garantizar que la producción se planifique y se ajuste con arreglo a la demanda, sobre todo en lo referente a la calidad y a la cantidad.*

2º *Optimizar los costes de producción conjuntos y los beneficios de las inversiones realizadas en respuesta a normas relativas al medio ambiente y al bienestar de los animales, y estabilizar los precios de producción.*

3º *Realizar estudios y desarrollar iniciativas conjuntas en relación con métodos de producción sostenibles, prácticas innovadoras, competitividad económica y la evolución del mercado.*

4° Promover la asistencia técnica y prestar este tipo de asistencia para la utilización de técnicas de producción respetuosas con el medio ambiente, así como de prácticas y técnicas de producción respetuosas con el bienestar de los animales.

5° Promover la asistencia técnica y prestar este tipo de asistencia para el uso de normas de producción, mejorar la calidad de los productos y desarrollar productos con denominación de origen protegida, indicación geográfica protegida o cubiertos por una etiqueta de calidad nacional.

6° Gestionar los subproductos y los residuos, en particular con el fin de proteger la calidad del agua, el suelo y el paisaje y preservar y fomentar la biodiversidad.

7° Contribuir a un uso sostenible de los recursos naturales y a la mitigación del cambio climático.

8° Desarrollar iniciativas conjuntas en materia de promoción y comercialización.

9° Promover la asistencia técnica necesaria para la utilización de los mercados de futuro y de los sistemas de seguro.”

En definitiva, en la PAC y en el propio RD se indican una serie de aspectos que son lógicos y razonables cuando se tiene una perspectiva global y de management de la cadena de valor cunícola, pero que pueden ser difícilmente adaptables al sector productivo, que como en muchos otros sectores agrarios y ganaderos, no está acostumbrado a tener una visión empresarial y de gestión económica. Si a ello se une la falta de perspectivas, la patente situación de incertidumbre e incluso la difícil situación económica de numerosos productores, se llega a una situación de inmovilismo que hace muy difícil la generación de iniciativas de constitución de OPC por parte del sector productivo. Por ello, el reconocimiento de OPC se puede adaptar al Real Decreto 350/2016, de 7 de octubre, por el que se establecen las bases reguladoras de ayudas para el fomento de la creación de organizaciones de productores de carácter supraautonómico en el sector agrario. Esta convocatoria de ayudas de apoyo a la creación de OP en general, puede ser aprovechada por las OPC reconocidas y que cumplan con los requisitos definidos en la propia orden.

El sector productivo frente a la creación de organizaciones de productores en cunicultura

Como es habitual en los sectores productivos primarios, las iniciativas que impliquen la unión y gestión en común resultan ser extremadamente complejas. Para la realización de este trabajo se han entrevistado a representantes de los eslabones de la cadena de valor cunícola, especialmente a productores. La idea de este trabajo exploratorio es conocer la aplicabilidad de los puntos que marcan los Reales Decretos 541/2016 y 350/2016 con el sector productivo y prever situaciones en base a la posición que presenta éste frente a los requisitos marcados por los dos RRDD citados.

De nuevo recurrimos al Artículo 3 del RD 541/2016 del que extraemos los principales requisitos y los analizamos en base a la opinión de los integrantes del sector entrevistados.

1. *Debe ser una iniciativa de los productores*, lo cual implica que no pueden estar promovidas por otros eslabones de la cadena de valor distintos al eslabón productivo, como por ejemplo una empresa de piensos, matadero o mayorista.

2. *Su gestión debe ser democrática y en común*, aspecto disruptivo en un sector con poca tradición en la gestión cooperativa y colaborativa, con altos niveles de opacidad y falta de comunicación y entendimiento.

3. *Debe asegurar la concentración de la oferta y la comercialización en común*. Esto supone que la producción se comercializaría a través de la OPC para lo cual, la propia organización deberá justificar mediante el aporte de una declaración de cumplimiento de este requisito. Los productores dejarían de vender una parte de su producción directamente a su cliente el cual es, en general y para la gran mayoría de productores, un matadero. Este aspecto también es sumamente disruptivo, pues no solo cambia procesos consolidados en el sector, sino que implica otorgar confianza a la OP para la gestión económica. La actitud empresarial es fundamental y se recomendaría la creación de un departamento comercial que se encargara de la relación entre los productores de la OPC y sus clientes, es decir, de los mataderos. Cabe recalcar la necesidad de seguir una estrategia común pactada previamente por los socios de la OPC y por sus mataderos clientes, en la que ambas partes busquen

el beneficio en común. Ello implica colaborar en la búsqueda de nuevos mercados y nichos de producto que posibiliten ofrecer un conejo diferente, adaptado al mercado, de valor añadido y que permita el uso de marcas propias o existentes.

En este sentido, el RD establece que hay que comercializar a través de la OPC como mínimo el 65% de los productos de sus miembros durante el primer año de pertenencia de los mismos a la OPC, el 70% de su producción el segundo año y el 75% de su producción el tercer año y sucesivos.

4. *Una de sus finalidades debe ser la mejora de la eficiencia productiva y el aumento de la competitividad.* Esto implicará cambios en la forma de trabajar, buscando la planificación y la gestión técnico-económica y alejándose de individualidades y decisiones unilaterales. Las granjas integrantes en la OPC deberán considerarse unidades productivas lo cual implica la creación de un departamento de producción. Al igual que en las actividades de comercialización, se deberá programar con los mataderos la producción, a efectos de ajustarla a la demanda.

5. *El número de productores integrados en la OP debe estar comprendido entre 25 y 500.* Aunque parezca sorprendente, la cantidad mínima de socios de la OPC podría no alcanzarse por ser un sector típicamente individualista e inmovilista, aspecto por otra parte comprensible dada la delicada situación de muchos productores, que tienen poca confianza en el futuro, bien porque creen que la situación puede seguir inestable o por estar próximos a la jubilación sin perspectivas de relevo generacional.

6. *La producción de animales comercializable anual debe ser como mínimo de 1.000.000 de animales y como máximo de 8.000.000.* Con estas cifras y suponiendo que el número de huecos para hembras de una explotación puede ser equivalente al número de animales que se venden a la semana, es fácil deducir que el número de hembras mínimo de una OPC debe ser de 20.000 aproximadamente.

7. *El plazo mínimo de adhesión de los socios a la OPC es de 2 años.* Esto es importante a la hora de informar a los productores interesados en constituir una OPC, ya que se penalizará el abandono de un socio y además podría perjudicar el status de OPC reconocida. Por ello es importante que los productores interesados en formar parte de una OPC tengan muy clara esta restricción, ya que deberán aportar una declaración individual de compromiso de permanencia durante al menos los dos años indicados.

8. *El reconocimiento de las OPC corresponde al órgano competente de la Comunidad Autónoma sede del domicilio social de la forma jurídica que adopte la OPC.* Las entrevistas y consultas realizadas en distintas consejerías de agricultura apuntan a que internamente, aún no se han asignado los equipos responsables para realizar los trámites de registro de OPC.

Una vez revisados los principales requisitos para el reconocimiento de OPC y conocidas las opiniones y las inquietudes que pueden aparecer en el eslabón productivo, se analizarán los requisitos del *Real Decreto 350/2016, de 7 de octubre, por el que se establecen las bases reguladoras de ayudas para el fomento de la creación de organizaciones de productores de carácter supraautonómico en el sector agrario*. Recordemos que este RD tiene como finalidad ayudar económicamente a la creación de OPs en general, no solo en cunicultura. Esta revisión se ha realizado nuevamente considerando las opiniones y cuestiones recopiladas en las entrevistas.

1. *Las OP beneficiarias deben ser de nueva constitución.* Por una parte, queda claro que si el RD de reconocimiento se publicó en noviembre, las OPC serán de nueva constitución. Pero por otra parte, esto limita las posibilidades de que las futuras OPC puedan acogerse a la convocatoria de ayudas de 2017, porque desde que se ha publicado el RD de reconocimiento hasta la fecha, no ha dado tiempo a los distintos grupos de productores interesados en crear la organización.

2. *Deben estar oficialmente reconocidas.* Como se indica en el punto anterior, los trámites para solicitar el reconocimiento pueden demorarse y por ello es puede ser difícil entrar en la convocatoria de 2017.

3. *Debe ser de ámbito supra-autonómico,* lo cual implica que los miembros de la OPC deben proceder de distintas CCAA. Para valorar este requisito se contemplan un indicador básico, la suma del volumen de producción de los miembros no debe superar el 90% del total en ninguna comunidad. Como se ha podido constatar en las entrevistas y hemos indicado anteriormente, la producción no se ha caracterizado por la colaboración y por la comunicación y ello puede frenar el cumplimiento del requisito, a no ser que poco a poco cambie la idiosincrasia del sector productivo y se abra a nuevas formas de trabajo y colaboración.

4. La OP debe reflejar en un documento cuales van a ser sus propuestas técnicas y productivas, cómo va a comercializar sus productos o cómo va a organizar sus recursos entre otras actividades. Con una duración de cinco años, se trata de elaborar un verdadero plan empresarial, que debe incluir todos los puntos que se definen en los manuales de management acerca del contenido de un plan de este tipo. La importancia del plan empresarial es tal, que servirá como documento de evaluación a efectos de conceder las ayudas y mantener los derechos de pago durante el periodo de cinco años en el que estarán vigentes. Para ello, se deberán cumplir cada año los hitos definidos en el plan, y ello será objeto de revisión por los evaluadores.

5. La forma jurídica de las OP se ajustará a la definición de PYME. Esto implica que la forma jurídica elegida para la organización debe ser compatible con la definición de PYME según la Recomendación de la Comisión (2003/361/CE) de 6 de mayo de 2003, lo cual implica recurrir a formas jurídicas como la Sociedad Limitada, la Sociedad Cooperativa o la Sociedad Agraria de Transformación, entre otras.

6. Deben alcanzar una producción comercializable de más de un millón de euros. Con los precios medios de conejo vivo en 2016 (Asescu, 2017) y asumiendo el criterio indicado en el RD 541/2016 que marca que la producción mínima alcanzable debe ser de 1.000.000 de animales, es fácil deducir que incluso para la OPC más pequeña será fácil alcanzar un mínimo de un millón de euros de facturación.

Conclusión

Tanto la Unión Europea como el MAPAMA son conscientes de los desequilibrios que se producen en las cadenas de valor alimentarias y por ello han establecido medidas y acciones que busquen el reequilibrio entre los distintos eslabones que las forman. De todos ellos, es el eslabón productivo el que se encuentra en una situación de mayor debilidad y por ello, las OP constituyen una gran oportunidad para mejorar la situación. El sector productivo de conejos en España es uno de los que más se ha visto afectado por los desequilibrios de su propia cadena, la cadena de valor cunícola, a los que hay que añadir la estabilización o incluso descenso de consumo de carne de conejo. Dos han sido los Reales Decretos de medidas para el apoyo de los productores de carne de conejo. El primero de ellos, el RD 541/2016, va destinado al reconocimiento de OPC y el segundo, el RD 350/2016 define las bases reguladoras para la convocatoria de ayudas a las OP reconocidas, no solo en cunicultura sino en otros sectores. Analizando los requisitos que marcan ambos RRDD y mediante entrevistas a distintos actores de la cadena de valor cunícola, se puede comprobar que si bien las medidas son adecuadas para reequilibrar el status de la producción en la cadena de valor cunícola, pueden suponer importantes cambios en el sector productivo. Estos cambios no serán solamente de aspectos técnicos o de manejo, sino que van más allá y pueden suponer un verdadero cambio de paradigma en la concepción actual de la industria productiva. Desde el punto de vista productivo, se pasará de una gestión individual a una gestión colectiva, en base a los requisitos que se marquen desde la OPC, y se deberán contemplar aspectos de manejo que deriven en una mayor competitividad. También será importante contar con otro eslabón de la cadena, la industria transformadora representada por los mataderos, con la que habrá que redefinir posturas, de cara a una gestión colaborativa y alineada entre ambas partes. La actividad de gestión y administración también deberá revisarse, pues las decisiones deberán tomarse por los socios productores de forma democrática y colectiva, sin que quepan individualismos ni decisiones unilaterales no aceptadas por la mayoría. A nivel económico y comercial, la OPC será la emisora de las facturas, pues la comercialización se deberá realizar en común y ello también obligará a revisar los aspectos de gestión de las unidades productivas a fin de alcanzar una economía de escala que redunden en el objetivo de mejorar la competitividad.

Este nuevo modelo implicará por tanto un cambio de filosofía, pensamiento, más alineado con la realidad de la economía actual, cuyo objetivo final será el reequilibrio de la cadena de valor cunícola y la consecución de rentas dignas y sostenibles para la producción.

Bibliografía

Asescu. 2016. *Los cunicultores vuelven a manifestarse ante la situación “dramática” que viven*. *Boletín de Cunicultura*, 181: 14.

Asescu. 2017. “Lonjas” en ASESCU <<http://www.asescu.com>> [Consulta: 3 de abril de 2017]

BOE, *Boletín Oficial del Estado*. 2017a. *Real Decreto 541/2016, de 25 de noviembre, por el que se regula el reconocimiento de las organizaciones de productores y sus asociaciones en el sector cunícola*. BOE, 26 de noviembre de 2016, núm. 286, p. 82882.

- BOE, Boletín Oficial del Estado. 2017b. Real Decreto 350/2016, de 7 de octubre, por el que se establecen las bases reguladoras de ayudas para el fomento de la creación de organizaciones de productores de carácter supraautonómico en el sector agrario. BOE, 8 de octubre de 2016, núm. 244, p. 71911.
- Díaz C. 2014. Hábitos alimentarios de los españoles. Cambios en las maneras de vivir, comprar y comer. *Distribución y Consumo*, 35(5): 20-29.
- DOUE, Diario Oficial de la Unión Europea (2013). REGLAMENTO (UE) No 1308/2013 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 17 de diciembre de 2013 por el que se crea la organización común de mercados de los productos agrarios y por el que se derogan los Reglamentos (CEE) nº 922/72, (CEE) nº 234/79, (CE) nº 1037/2001 y (CE) nº 1234/2007. DOUE, 20 de diciembre de 2013, L 347/671.
- Europa Press. 2016. El Gobierno regula el reconocimiento de organizaciones de productores y sus asociaciones en sector cunícola en Europa press. <<http://www.europapress.es/economia/noticia-gobierno-regula-reconocimiento-organizaciones-productores-asociaciones-sector-cunicola-20161125145255.html>> [Consulta: 25 de enero de 2017]
- Langreo A., Benito I. 2010. Estudio: Análisis de competitividad del sector cunícola español. Trabajo de investigación. Madrid: Intercun, Organización Interprofesional para Impulsar el Sector Cunícola.
- MAPAMA, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2017). Situación de mercado del sector cunícola. Reunión sectorial 15-02-2017. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Subdirección General de Productos Ganaderos. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Mesa sectorial cunícola.
- Montero L. 2015. La cadena de valor del sector cunícola en España. Segmentación del consumo en base al Food-Related Lifestyle (FRL). Tesis. Universitat Politècnica de València. Valencia, España.
- Montero L., Escribá C., Buitrago J. 2015. El Marketing como propuesta para incrementar el consumo de carne de conejo (III). *Boletín de Cunicultura*, 174: 34-42.
- Porter M. 2006. Ventaja Competitiva. Quinta reimpresión. México: CECSA.
- Rifkin J. 2014. La sociedad de coste marginal cero. Barcelona: Paidós.

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA

- Consecuencias de una restricción de la alimentación durante la gestación de la coneja sobre el crecimiento fetoplacentario

Rodríguez M., Arias-Álvarez M., Formoso-Rafferty N., Velasco B., Sánchez A., Lorenzo P.L., García-García R.M., Rebollar P.G.

- Selección por varianza residual del tamaño de camada: consecuencias en los componentes del tamaño de camada

García M.L., Blasco A., Argente M.J.

- Hacia el tamaño de camada óptimo de las conejas

Savietto D.

- La movilización de grasa entre la segunda inseminación y el destete está positivamente relacionada con el éxito reproductivo en conejas primíparas

Delgado R., Abad-Guamán R., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

- Predicción de la producción de leche de la coneja en lactaciones de 25 días a partir del peso de la camada

Fariás C., Delgado R., Abad-Guamán R., Villamide M.J., Menoyo D., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

Consecuencias de una restricción de la alimentación durante la gestación de la coneja sobre el crecimiento fetoplacentario

Consequences of a food restriction during pregnancy of rabbit does on feto-placental growth

Rodríguez M.^{1,3*}, Arias-Álvarez M.², Formoso-Rafferty N.², Velasco B.¹, Sánchez A.³, Lorenzo P.L.³, García-García R.M.³, Rebollar P.G.¹

¹ Dept. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

² Dept. Producción Animal, Facultad de Veterinaria, UCM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

³ Dept. Fisiología (Fisiología Animal), Facultad de Veterinaria, UCM, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, España

* Dirección de contacto: maria.rodriguez.francisco@alumnos.upm.es

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar las consecuencias de la restricción de alimento en gestación sobre el desarrollo fetoplacentario en conejas multíparas. Se utilizaron 98 conejas y se distribuyeron al azar en 4 grupos experimentales atendiendo a la duración y periodo de la gestación en que se aplicó una restricción de alimento (40% del consumo voluntario en su primera gestación): restringidas la primera semana (R07, n=26), la segunda y tercera semana (R721, n=26), las 3 primeras semanas (R021, n=22) o nunca (control, n=21). En la cuarta (última semana de gestación) todas dispusieron de pienso *ad libitum*. A los 28 días de gestación, 4 conejas de cada grupo se sacrificaron para evaluar el desarrollo fetoplacentario y al final de la misma se analizaron los parámetros productivos. El consumo de pienso tras cesar la restricción de alimento aumentó significativamente en todos los grupos que habían estado restringidos. Los fetos de las conejas controles y de las R07 tendieron a pesar más que los de los otros grupos y sus placentas también fueron, en general, más grandes. Las distintas pautas de restricción no afectaron a la fertilidad, ni a la prolificidad, ni a los pesos de los gazapos al nacimiento. En conclusión, la restricción de alimento al 40% durante la primera semana de gestación mantuvo el desarrollo fetoplacentario igual que el grupo control mediante un incremento de la eficiencia placentaria para salvaguardar la supervivencia de los fetos. El incremento del tiempo de restricción a 2 y/o 3 semanas afectó negativamente al desarrollo fetoplacentario, aunque al nacimiento no se observaron diferencias significativas.

Palabras clave: coneja, restricción alimentaria, desarrollo fetoplacentario, productividad.

Abstract

The aim of the current study was to evaluate the consequences of food restriction during gestation on feto-placental development in multiparous rabbit does. Ninety-eight does were randomly distributed in 4 experimental groups according to the duration and period of gestation in which the restriction was applied (40% of voluntary feed intake during first pregnancy): restricted in the first week (R07, n=26), second and third week (R721, n=26) and in the first three weeks (R021, n=22) or never restricted (control, n=21). The last week of gestation all animals were fed *ad libitum*. On day 28 of gestation, four does of each group were sacrificed to evaluate feto-placental development and at the end of gestation productive parameters were analysed. All restricted groups increased significantly the voluntary feed intake when the food restriction period ended. Foetuses from control and R07 groups tended to be heavier than the others groups and their placentas were also larger. However, the different restriction patterns affected neither the fertility, nor the prolificacy nor the weight of kits at parturition. In conclusion, food restriction of 40% during the first week of gestation maintained the feto-placental development as the control group by means an increase in placental efficiency to preserve the survival of the foetuses. The increase in the restriction period to 2 and/or 3 weeks affected negatively to feto-placental development, although there were no significant differences at parturition.

Keywords: rabbit does, restriction, feto-placental development, productivity.

Introducción

La gestación de la coneja se divide en 3 etapas: de 0 a 7 días tiene lugar la fecundación de los ovocitos, el desarrollo embrionario preimplantacional y la implantación, de 8 a 21 días, la placentación y la organogénesis fetal y de 22 a 31 días, el crecimiento exponencial del feto (Anderson y Henck, 1994). Las primeras semanas no implican un gasto energético muy acusado en la madre y se considera un periodo anabólico con respecto a su metabolismo. No obstante, se trata de una fase crítica que puede definir la tasa de implantación embrionaria y el desarrollo de la placenta, factores limitantes para un buen crecimiento fetal. En el último tercio de la gestación la madre consume menos alimento y entra en un periodo catabólico para la obtención de energía destinada al crecimiento del feto. Dado que los costes de alimentación en las explotaciones de conejos pueden llegar a ser del 70%, la restricción del alimento en determinados momentos de la gestación podría ser una estrategia positiva para reducir los costes de producción, aunque se puede perjudicar el desarrollo de los fetos y placentas, así como el bienestar de la coneja. Por tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar cómo afecta una restricción alimentaria en distintos periodos de la gestación de conejas múltiparas, sobre el desarrollo fetoplacentario y sus parámetros productivos.

Material y métodos

Se utilizaron 98 conejas múltiparas no lactantes, alojadas bajo condiciones ambientales controladas (20-25°C, 16HL:8HO). Se les suministró un pienso con 2400 kcal de ED/kg, 35% FND y 16% PB (NANTA, S.A.) controlándose el consumo medio voluntario en primera gestación (175g/d). Todas las conejas se inseminaron artificialmente el mismo día y para inducirles la ovulación se les administró 20 µg de gonadorelina, vía i.m. (Inducel-GnRH, Lab. Ovejero, España). Durante la 4ª gestación se aplicó una restricción de alimento de un 40% del consumo previamente calculado (105 g/d) y se distribuyeron al azar en cuatro grupos experimentales atendiendo a la duración y periodo de la gestación en que se aplicó la restricción: la primera semana (R07, n=26), la segunda y tercera semana (R721, n=26), las 3 primeras semanas (R021, n=22) o nunca (control, n=21). Se controló el consumo durante los periodos que dispusieron de alimentación *ad libitum*.

El día 28 de gestación se sacrificaron 16 conejas preñadas (4 de cada grupo) según RD 53/2013. Tras realizar una laparotomía media ventral, se hizo un recuento de cuerpos lúteos en el ovario para calcular la tasa de ovulación por coneja. Tras la apertura de ambos cuernos uterinos, se extrajeron los fetos y las placentas, calculando el porcentaje de estructuras fetales no viables con respecto al total. En los fetos morfológicamente viables, ya muertos por anoxia, se midió la longitud (LON), el diámetro biparietal (DBP), torácico (DT) y occipito-nasal (DON). Se pesaron los fetos enteros, y tras la decapitación, las cabezas y los troncos por separado. Además, se pesó la placenta completa así como la zona materna (decidua) y la fetal (laberinto) por separado y se midió la longitud, el ancho y el grosor de ambas. La eficiencia placentaria se calculó dividiendo el peso del feto entre el peso de la placenta completa. La gestación de las conejas restantes (n=82) se llevó a término y se calculó la fertilidad [(nº gestantes/nº de inseminadas) ×100] de todos los animales, la prolificidad (nacidos vivos y muertos/ parto) y el peso de los gazapos de las que parieron.

La tasa de ovulación, la prolificidad, el peso de los gazapos al nacimiento y el consumo se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) considerando el tipo de restricción aplicada como efecto principal. El peso, número y medidas de fetos y placentas así como la eficiencia placentaria se analizaron mediante el mismo procedimiento considerando el tamaño de camada como covariable. Para estudiar el efecto de la restricción sobre el porcentaje de fertilidad y de fetos no viables se utilizó una Chi-cuadrado (SAS Inst. Inc., USA).

Resultados y discusión

En la **Figura 1** se puede observar que tras cesar la restricción en cualquiera de los grupos, las conejas incrementaron el consumo significativamente, superando en algunos casos al grupo control, como sucedió en el grupo R07 la 2ª semana de gestación, y en los grupos R721 y R021, en la 4ª.

En la 3ª semana, los grupos R07 y control se igualaron, y en la última el consumo voluntario disminuyó en ambos, especialmente en el grupo R07, entre un 25-30%, debido a la disminución en la capacidad abdominal de la hembra gestante a término por el incremento en el tamaño de sus fetos como se describe más adelante. Manal *et al.* (2010) describieron resultados similares, confirmando que la coneja aumenta y compensa su consumo voluntario al reestablecer el suministro de pienso *ad libitum*, y en el caso de los grupos R721 y R021, ocurrió cuando las necesidades fetales eran mayores (Symeon *et al.*, 2015).

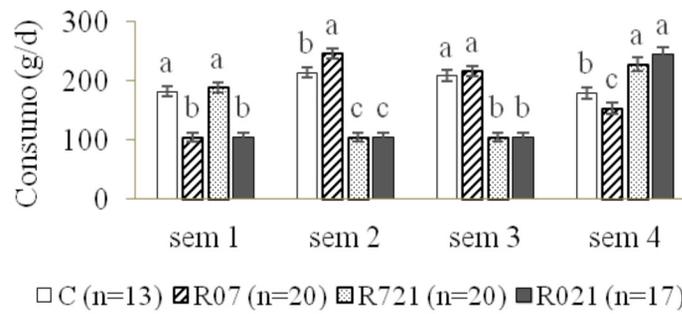


Figura 1. Consumo de alimento (g/d) durante la gestación en conejas alimentadas *ad libitum* (C), restringidas al 40% una semana desde el día 0 al 7 (R07), dos semanas desde el día 7 al 21 (R721) y tres semanas desde el día 0 al 21 (R021) de la gestación. Distintas letras muestran diferencias significativas entre grupos de restricción en cada semana ($P < 0,05$).

Los 4 grupos presentaron tasas de ovulación similares ($13,5 \pm 1,67$ cuerpos lúteos) y la restricción no afectó al porcentaje de estructuras fetales no viables que fueron similares en los 3 grupos ($11,3 \pm 4,40\%$). Tampoco hubo diferencias en el número de fetos totales por coneja (Tabla 1).

Tabla 1. Número y biometría de fetos de 28 días de edad gestacional en conejas alimentadas *ad libitum* (Control), restringidas al 40% una semana desde el día 0 al 7 (R07), dos semanas desde el día 7 al 21 (R721) y tres semanas desde el día 0 al 21 (R021) de gestación.

| | Grupos experimentales | | | | RMS | P>f |
|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|-------|------|
| | Control | R07 | R721 | R021 | | |
| N° de conejas | 4 | 4 | 4 | 4 | | |
| Fetos totales/coneja | 13 | 14 | 13 | 11 | 3,5 | n.s. |
| Peso feto (g) | 39,90 ^a | 38,82 ^a | 37,68 ^{ab} | 35,55 ^b | 6,382 | * |
| Peso cabeza (g) | 8,78 ^a | 8,68 ^a | 8,33 ^{ab} | 7,88 ^b | 1,111 | ** |
| Peso cuerpo (g) | 29,94 ^a | 28,95 ^{ab} | 26,96 ^{bc} | 25,40 ^c | 5,116 | ** |
| LON (mm) | 101,73 | 100,08 | 99,78 | 98,78 | 6,136 | n.s. |
| DTC (mm) | 20,04 ^{bc} | 21,88 ^a | 21,00 ^{ab} | 19,65 ^c | 2,272 | ** |
| DBP (mm) | 18,82 ^c | 20,04 ^a | 19,01 ^b | 18,92 ^c | 1,973 | * |
| DON (mm) | 28,73 ^{bc} | 30,57 ^a | 28,80 ^b | 27,81 ^c | 2,276 | ** |

LON: longitud del feto; DTC: diámetro torácico; DBP: diámetro biparietal; DON: diámetro occipito-nasal; RMS: cuadrado medio del error. Medias en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes. n.s.: no significativo. *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$.

Sin embargo, tanto el peso total del feto como el de la cabeza y el cuerpo por separado fueron mayores en las controles y en las restringidas la primera semana (R07), comparados con las restringidas hasta el día 21 de gestación y mostrando valores intermedios el grupo R721. Esto puede ser debido a que el desarrollo fetal se inicia y mantiene durante la segunda y tercera semanas de gestación momento en el que estos dos grupos (C y R07) estaban comiendo *ad libitum* (Beaudoin *et al.*, 2003) y los otros dos (R721 y R021) seguían restringidos. La longitud de los fetos fue similar en todos los grupos, sin embargo sus diámetros fueron mayores en las restringidas sólo una semana (R07), mientras que en los otros dos grupos restringidos se redujeron más cuanto mayor fue el tiempo de restricción utilizado. Por lo tanto, los fetos del tratamiento R07 mantuvieron el peso como el grupo control y mejoraron las dimensiones fetales. Estos resultados son similares a los obtenidos previamente con restricciones de alimento del 50% a partir del día 9 o durante toda la gestación (López-Tello *et al.*, 2016 y 2017). En ellos determinamos un deterioro en la funcionalidad placentaria por isquemia o daño en el epitelio placentario, que secundariamente generó reducciones significativas en la biometría fetal.

Tabla 2. Peso y dimensiones de placentas de fetos de 28 días de edad de conejas alimentadas ad libitum (Control), restringidas al 40% una semana desde el día 0 al 7 (R07), dos semanas desde el día 7 al 21 (R721) y tres semanas desde el día 0 al 21 (R021) de la gestación.

| | Grupos experimentales | | | | RMS | P>f |
|-------------------------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------|------|
| | Control | R07 | R721 | R021 | | |
| Nº de conejas | 4 | 4 | 4 | 4 | | |
| Nº de Placentas/coneja | 13 | 14 | 13 | 11 | | |
| Placenta completa (g) | 5,07 | 4,93 | 4,67 | 4,66 | 0,918 | n.s. |
| Laberinto | | | | | | |
| Peso (g) | 3,35 | 3,29 | 3,29 | 3,06 | 0,684 | n.s. |
| Longitud (mm) | 34,17 ^{bc} | 36,78 ^a | 36,06 ^{ab} | 33,31 ^c | 3,952 | ** |
| Anchura (mm) | 26,99 | 27,77 | 26,98 | 26,81 | 3,546 | n.s. |
| Grosor (mm) | 5,71 ^a | 5,27 ^{ab} | 4,70 ^{bc} | 4,63 ^c | 1,061 | ** |
| Decidua | | | | | | |
| Peso (g) | 1,43 | 1,41 | 1,20 | 1,47 | 0,376 | † |
| Longitud (mm) | 36,68 | 36,94 | 36,98 | 37,08 | 4,940 | n.s. |
| Anchura (mm) | 18,38 ^a | 18,26 ^a | 16,06 ^b | 18,33 ^a | 2,756 | ** |
| Grosor (mm) | 3,62 | 3,25 | 3,03 | 3,43 | 1,001 | n.s. |
| Eficiencia placentaria ¹ | 7,23 ^{b†} | 7,76 ^a | 7,79 ^a | 7,20 ^b | 0,944 | ** |

RMS: cuadrado medio del error. Medias en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes. n.s.: no significativo. †: P<0,1 **; P<0,01. †: peso feto/peso placenta. ‡: control vs. R07 (P=0,06) y control vs. R721 (P=0,07).

Aunque la restricción del alimento no afectó al peso de la placenta completa (**Tabla 2**), las conejas restringidas durante una y dos semanas (R07 y R721, respectivamente) tuvieron laberintos más largos que las restringidas tres semanas (R021). Los de las controles presentaron valores intermedios y la anchura no se vio afectada en ningún grupo. En las conejas restringidas durante dos semanas (R721), la decidua tendió a pesar menos y fue más estrecha que en el resto de los grupos. A pesar de los peores valores fetométricos obtenidos a medida que aumentaba el tiempo de restricción, la eficiencia placentaria fue máxima en los grupos restringidos una y dos semanas (R07 y R721) en los que los fetos consiguieron valores relativos mayores en relación al peso de sus placentas. Este índice puede estar relacionado con el mayor desarrollo del laberinto de estas placentas que podría estar compensando y proporcionando los nutrientes necesarios a los fetos, aun cuando la madre recibía menos nutrientes. Sin embargo, el grupo restringido durante más tiempo (R021) dio lugar a placentas pequeñas y poco eficientes, es decir fetos más pequeños, mientras que en las controles su menor eficiencia se debió al peso proporcionado de sus grandes placentas y fetos. Se podría decir que a pesar de su peso y dimensiones, las placentas de los grupos restringidos en un periodo corto de tiempo se pueden adaptar y mantener o incluso incrementar la transferencia de nutrientes para ayudar al mantenimiento del crecimiento fetal (Coan *et al.*, 2010).

En relación a los resultados productivos, no hubo diferencias en la fertilidad siendo de media 73,3±9,17% (P>0,05), en la prolificidad con 11,0±0,85 nacidos vivos y 0,4±0,17 muertos (P>0,05), ni en el peso de los gazapos al nacimiento (58,1±2,66 g; P>0,05). Nafeaa *et al.*, (2011), tampoco observaron efectos adversos utilizando una restricción similar a la de este estudio en la primera mitad de la gestación.

Tras el análisis de estos resultados preliminares, consideramos que una restricción del 40% de la cantidad de pienso consumida *ad libitum* durante la primera semana de gestación puede mantener el desarrollo fetoplacentario igual que el grupo control mediante un incremento de la eficiencia placentaria para salvaguardar la supervivencia de los fetos y el peso al nacimiento. El incremento del tiempo de restricción parece afectar en distinta medida al desarrollo fetoplacentario aunque al nacimiento no se observaron diferencias significativas. No obstante, queda por confirmar el modo en que se ha realizado el reparto de nutrientes de la madre a los fetos, la gestión de sus reservas en la lactación posterior y, en definitiva, las consecuencias en su vida productiva.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL-2015 65572 y la Comunidad de Madrid (S2013/ABI-2913). Agradecemos el apoyo en la recogida de muestras a Meza A. y De Diego A.

Bibliografía

- Anderson J.A., Henck J.W. 1994. Fetal development. En: Manning P.J., Ringler D.H., Newcomer CE, editors. *The biology of the laboratory rabbit*. Academic Press. 457 pp.
- Beaudoin S., Barbet P., Bargo F. 2003. Developmental stages in the rabbit embryo: guidelines to choose an appropriate experimental model. *Fetal Diagn. Ther.*, 18: 422-427.
- Coan P.M., Vaughan O.R., Sekita Y., Finn S.L., Burton G.J., Constancia M., Fowden A.L. 2010. Adaptation in placental phenotype support fetal growth during undernutrition of pregnant mice. *J. Physiol.*, 588: 527-538.
- López-Tello J., Arias-Alvarez M., Jimenez-Martínez M.A., Barbero-Fernández A., García-García R.M., Rodríguez M., Lorenzo P.L., Torres-Rovira L., Astiz S., González-Bulnes A., Rebollar P.G. 2016. The effects of sildenafil citrate on feto-placental development and haemodynamics in a rabbit model of intrauterine growth restriction. *Reprod. Fert. Develop.*, doi: 10.1071/RD15330.
- López-Tello J., Arias-Alvarez M., Jimenez-Martínez M.A., García-García R.M., Rodríguez M., Lorenzo P.L., Bermejo-Poza R., González-Bulnes A., Rebollar P.G. 2017. Competition for materno-fetal resource partitioning in a rabbit model of undernourished pregnancy. *PLoS ONE*12: e0169194.
- Manal A.F., Tony M.A., Ezzo O.H. 2010. Feed restriction of pregnant nulliparous rabbit does: consequences on reproductive performance and maternal behaviour. *Anim. Reprod. Sci.*, 120: 179-186.
- Nafeaa A., Ahmed S.A.E., Fat Hallah S. 2011. Effect of feed restriction during pregnancy on performance and productivity of New Zealand white rabbit does. *Vet. Med. Int.*, Article ID 839737, 5 pages.
- Symeon G.K., Goliomytis M., Bizelis I., Papadomichelakis G., Pagonopoulou O., Abas Z., Chadio S.E. 2015. Effects of gestational maternal undernutrition on growth, carcass composition and meat quality of rabbit offspring. *PLoS ONE*,10: e0118259.

Selección por varianza residual del tamaño de camada: consecuencias en los componentes del tamaño de camada

Selection for residual variance of the litter size: consequences on the components of the litter size

García M.L.^{1*}, Blasco A.², Argente M.J.¹

¹ Dept. Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. Beniel km.3.2, 03312 Orihuela, España

² Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València, P.O. Box 22012. 46022 Valencia, España

* Dirección de contacto: mariluz.garcia@umh.es

Resumen

Se está llevando a cabo un experimento de selección divergente por varianza residual del tamaño de camada. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de la selección, del estado de lactación y de la estación sobre el tamaño de camada y sus componentes. La tasa de ovulación (TO) y el número de embriones implantados (EI) fueron contabilizados mediante una laparoscopia realizada a los 12 días de la segunda gestación. Al parto, se midió el número de nacidos totales (NT2). La supervivencia embrionaria (SE), fetal (SF) y prenatal (SP) se estimó como EI/TO, NT2/EI y NT2/TO, respectivamente. Después de 11 generaciones de selección, la tasa de ovulación fue similar en ambas líneas. Sin embargo, la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada mostró un mayor número de embriones implantados (1.62 embriones), una mayor supervivencia embrionaria (0.11) y un mayor número de gazapos al parto (0.75 gazapos) que la línea heterogénea. Respecto al efecto de la lactación, las hembras lactantes mostraron una mayor TO que las no lactantes (13.4 óvulos vs. 12.0 óvulos, respectivamente), pero similar NT2. El estrés térmico tuvo un efecto negativo sobre NT2, pues el número de gazapos al parto fue menor en verano que en otoño (-0.67 gazapos), debido a una menor SF (-0.07) y SP (-0.07). Como conclusión, la selección por varianza residual del tamaño de camada ha mostrado una respuesta correlacionada negativa en el tamaño de camada, a través de una menor supervivencia embrionaria. Tanto el estado de la lactación como la estación del año afectan a los componentes del tamaño de camada, pero sólo el verano disminuye el tamaño de camada al nacimiento.

Palabras clave: embriones implantados, estación, lactación, tamaño de camada, tasa de ovulación, varianza residual.

Abstract

A divergent selection experiment on residual variance of litter size was carried out in rabbits. The aim of this work is to analyse the effect of selection, lactation status and season in litter size and its components. Ovulation rate (OR) and number of implanted embryos (IE) were measured by laparoscopy at 12 d of the second gestation in females. At the end of the second gestation, litter size was measured as total number of kits born (TB2). Embryonic (ES), foetal (FS) and prenatal (PS) survival were estimated as IE/OR, TB2/IE and TB2/OR, respectively. Ovulation rate was similar in both lines; however, after eleven generations of selection, the line selected for homogeneity in litter size showed 1.62 embryos more at implantation and higher embryonic survival (0.11) than the heterogeneous line, leading to higher litter size at birth. Lactating females showed higher OR (13.4 oocytes) than no lactating females (12.0 oocytes), but similar TB2. Litter size at birth was lower in summer than in autumn (-0.67 kits) due to lower FS (-0.07) and PS (-0.07). In conclusion, selection for residual variance of litter size has shown a negative correlated response in litter size, by means of lower embryonic survival. Both the state of lactation and the season affect the components of litter size, but only summer decreases litter size at birth.

Keywords: implanted embryos, lactation, litter size, ovulation rate, residual variance, season.

Introducción

En los últimos años, se han llevado a cabo varios experimentos de selección divergente por varianza residual para

el peso al nacimiento (Bodin *et al.*, 2010, en conejo; Formoso-Rafferty *et al.*, 2016, en ratón), y el tamaño de camada (Blasco *et al.*, 2017, en conejo). En especies prolíficas, la homogeneidad en el tamaño de camadas ayudaría al manejo en las explotaciones e incrementaría la viabilidad de los gazapos. Además, una disminución de la varianza residual incrementaría la heredabilidad del carácter (Formoso-Rafferty *et al.*, 2017); esto puede ser particularmente importante para incrementar la respuesta a la selección en caracteres con baja heredabilidad, como el tamaño de camada (Argente *et al.*, 2010).

El tamaño de camada es el carácter maternal con más peso económico en una explotación cunícola (Cartuche *et al.*, 2014). El tamaño de camada está limitado por la tasa de ovulación, la fertilidad y las supervivencias embrionaria y fetal. El objetivo de este trabajo es analizar el efecto de la selección por varianza residual del tamaño de camada, del estado de lactación y de la estación en los componentes del tamaño de camada.

Material y métodos

Animales

Un experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada se está llevando a cabo en la Universidad Miguel Hernández de Elche (descrito por Blasco *et al.*, 2017). Un total de 67 hembras de la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada (Línea L) y 68 hembras seleccionadas para aumentar la variabilidad del tamaño de camada (Línea H) de la generación 11 de selección fueron utilizadas en este estudio. Los animales se manejan en bandas semanales y montas a 11 días post-parto. El destete se realiza a los 28 días después del parto. Se realizó una laparoscopia a los 12 días de la segunda gestación para estimar la tasa de ovulación (TO), como el número de cuerpos lúteos presentes en el ovario, y el número de embriones implantados (EI). En el segundo parto, el número total de nacidos (vivos y muertos) fue contabilizado (NT2).

Caracteres

Los caracteres analizados fueron la tasa de ovulación, el número de embriones implantados, la supervivencia embrionaria ($SE=EI/TO$), la supervivencia fetal ($SF=NT2/EI$), la supervivencia prenatal ($SP=TO/NT2$) y el tamaño de camada al segundo parto.

Análisis estadísticos

Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. El modelo utilizado incluyó los efectos de línea (H y L), lactación (lactante y no lactante) y estación (verano y otoño). Se utilizaron priors planos acotados para todos los efectos. Los residuos se distribuyeron normalmente con media 0 y varianza $1\sigma^2$. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas se estimaron usando el muestreo de Gibbs. Se tomaron cadenas de 60.000 iteraciones con un periodo de quemado de 10.000 iteraciones y se guardó una muestra de cada 10 iteraciones.

Resultados y discusión

La **Tabla 1** muestra los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre la línea H y la línea L. La tasa de ovulación fue similar en ambas líneas. La línea H presentó 1.62 embriones menos que la línea L ($P=1$) y una menor supervivencia embrionaria (-0.11, $P=1$). Desde la implantación hasta el parto las líneas mostraron similar supervivencia fetal (0.03, $P=0.75$). Las diferencias encontradas en la implantación se mantienen hasta el parto, presentando la línea H una menor supervivencia prenatal (-0.05, $P=0.92$) y un menor tamaño de camada (-0.75 gazapos, $P=0.94$). Por tanto, los resultados muestran que la diferencia en tamaño de camada entre las líneas se establece en la implantación. Los resultados de la generación 11 de selección están de acuerdo con los obtenidos en las generaciones 6 y 7 (Argente *et al.*, 2017).

Respecto al efecto de la lactación, las hembras lactantes presentaron 1.30 óvulos más que las hembras no lactantes ($P=1$, **Tabla 2**). El número de embriones implantados fue superior en las hembras lactantes (10.3 embriones) que en las hembras no lactantes (9.5 embriones). El estado de lactación no afectó ni a la supervivencia embrionaria ni a la supervivencia fetal. La supervivencia prenatal fue 0.52 en las hembras lactantes y 0.56 en las hembras no lactantes ($P=0.84$). El tamaño de camada al segundo parto fue similar para ambos estados de lactación.

Respecto al efecto de la estación, la tasa de ovulación, el número de embriones implantados, y la supervivencia

prenatal fue similar en verano y en otoño (Tabla 3). En verano las hembras presentaron una menor supervivencia fetal (0.68) y prenatal (0.50) y tamaño de camada (6.4) que en otoño (0.75, 0.57 y 7.1, respectivamente). El estrés térmico afecta negativamente a la supervivencia fetal, desde la implantación hasta el parto, y como consecuencia disminuye el número de gazapos al parto (García et al., 2000).

En conclusión, la selección por varianza residual del tamaño de camada muestra una respuesta correlacionada negativa sobre el tamaño de camada a través de una menor supervivencia embrionaria. Con respecto al estado de lactación, aunque las hembras lactantes presentan mayor tasa de ovulación, el tamaño de camada al parto no

Tabla 1. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre la línea de alta (H) y de baja (L) variabilidad del tamaño de camada.

| | Mediana H | Mediana L | D_{H-L} | HPD _{95%} | P |
|-----|-----------|-----------|-----------|--------------------|------|
| TO | 12.6 | 12.8 | -0.13 | -0.91, 0.59 | 0.64 |
| EI | 9.1 | 10.7 | -1.62 | -2.63, -0.68 | 1 |
| SE | 0.73 | 0.84 | -0.11 | -0.18, -0.05 | 1 |
| SF | 0.73 | 0.70 | 0.03 | -0.06, 0.11 | 0.75 |
| SP | 0.51 | 0.56 | -0.05 | -0.12, 0.02 | 0.92 |
| NT2 | 6.4 | 7.2 | -0.75 | -1.69, 0.19 | 0.94 |

TO: Tasa de ovulación. EI: Embriones implantados. SE: Supervivencia Embrionaria. SF: Supervivencia Fetal. SP: Supervivencia Prenatal. NT2: Número de nacidos totales al segundo parto. D_{H-L} : mediana posterior de la diferencia entre las líneas H y L. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: $P(D_{H-L} > 0)$ cuando $D_{H-L} > 0$ y $P(D_{H-L} < 0)$ cuando $D_{H-L} < 0$.

Tabla 2. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las hembras lactantes (Lac) y no lactantes (No Lac).

| | Mediana Lac | Mediana No Lac | $D_{Lac-No Lac}$ | HPD _{95%} | P |
|-----|-------------|----------------|------------------|--------------------|------|
| TO | 13.4 | 12.0 | 1.30 | 0.54, 2.15 | 1 |
| EI | 10.3 | 9.5 | 0.77 | -0.23, 1.84 | 0.92 |
| SE | 0.78 | 0.79 | -0.02 | -0.08, 0.06 | 0.66 |
| SF | 0.72 | 0.71 | 0.02 | -0.08, 0.10 | 0.61 |
| SP | 0.52 | 0.56 | -0.04 | -0.12, 0.04 | 0.84 |
| NT2 | 6.7 | 6.8 | -0.08 | -0.97, 0.74 | 0.57 |

TO: Tasa de ovulación. EI: Embriones implantados. SE: Supervivencia Embrionaria. SF: Supervivencia Fetal. SP: Supervivencia Prenatal. NT2: Número de nacidos totales al segundo parto. $D_{Lac-No Lac}$: mediana posterior de la diferencia entre lactantes y no lactantes. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: $P(D_{Lac-No Lac} > 0)$ cuando $D_{Lac-No Lac} > 0$ y $P(D_{Lac-No Lac} < 0)$ cuando $D_{Lac-No Lac} < 0$.

Tabla 3. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre el verano (V) y el otoño (O).

| | Mediana V | Mediana O | D_{V-O} | HPD _{95%} | P |
|-----|-----------|-----------|-----------|--------------------|------|
| TO | 12.8 | 12.6 | 0.3 | -0.54, 1.04 | 0.71 |
| EI | 9.8 | 10.0 | -0.20 | -1.27, 0.80 | 0.64 |
| SE | 0.77 | 0.80 | -0.03 | -0.09, 0.05 | 0.78 |
| SF | 0.68 | 0.75 | -0.07 | -0.16, 0.02 | 0.95 |
| SP | 0.50 | 0.57 | -0.07 | -0.14, 0.01 | 0.96 |
| NT2 | 6.4 | 7.1 | -0.67 | -1.64, 0.31 | 0.91 |

TO: Tasa de ovulación. EI: Embriones implantados. EI_{TO}: Embriones Implantados corregido por la covariable TO. SE: Supervivencia Embrionaria. SF: Supervivencia Fetal. SP: Supervivencia Prenatal. NT2: Número de nacidos totales al segundo parto. NT2_{EI}: Número de nacidos totales al segundo parto corregido por la covariable EI. D_{V-O} : mediana posterior de la diferencia entre verano y otoño. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: $P(D_{V-O} > 0)$ cuando $D_{V-O} > 0$ y $P(D_{V-O} < 0)$ cuando $D_{V-O} < 0$.

está influido por el estado de lactación. El estrés térmico afecta al tamaño de camada incrementando la mortalidad desde la implantación hasta el parto.

Agradecimientos

Este experimento ha sido financiado con los proyectos AGL2011-29831-C03-02 y AGL2014-55921-C2-2-P.

Bibliografía

- Argente M.J., García M.L., Muelas R., Blasco A. 2010. Effect of selection for residual variance experiment of litter size on components of litter size in rabbits. En: 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Leipzig, Germany. Comunicación 0526.
- Argente M.J., García M.L., Calle E., Blasco A. 2017. Correlated response in litter size components in rabbits selected for litter size variability. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, in press.
- Blasco A., Martínez-Paredes M., García M.L., Ibáñez-Escriche N., Argente M.J. 2017. Selection for increased and reduced environmental variance of litter size in rabbits. *Genetics Selection Evolution*, in press.
- Bodin L., Garcia M., Bolet G., Garreau H. 2010. Results of canalizing selection for rabbit birth weight. En: 9th World Congress Genetic Applied Livestock Production. Leipzig, Germany.
- Cartuche L., Pascual M., Gómez E.A., Blasco A. 2014. Economic weights in Rabbits. *World Rabbit Science*, 22: 165-177.
- Formoso-Rafferty N., Cervantes I., Ibáñez-Escriche N., Gutiérrez J.P. 2016. Genetic control of the environmental variance for birth weight in seven generations of a divergent selection experiment in mice. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 133(3): 227-237.
- Formoso-Rafferty N., Cervantes I., Ibáñez-Escriche N., Gutiérrez J.P. 2017. Modulating birth weight heritability in mice. *Journal of Animal Science*, 95. doi:10.2527/jas2016.1169.
- García M.L., Lavara R., Viudes de Castro M.P., Vicente J.S. 2000. Litter size components from two selected lines of rabbits. En: 7th World Rabbit Congress. Valencia, Spain, pp. 133-137.

Hacia el tamaño de camada óptimo de las conejas

Towards an optimal rabbit litter size

Savietto D.

GenPhySE, Université de Toulouse, INRA, INPT, ENVT, Castanet Tolosan, France

Dirección de contacto: davi.savietto@inra.fr

Resumen

A la luz del trabajo del ornitólogo David L. Lack, que describió que la mortalidad en nido aumenta con el aumento del tamaño de la nidada, se han estudiado las relaciones entre el número de nacidos vivos (**nv**) y la supervivencia de los gazapos durante la lactación (**sl**) y entre **nv** y el número de destetados (**nd**) en 5 líneas de conejos de la Universitat Politècnica de València. La relación entre **nv** y **sl** fue no lineal. Para las líneas seleccionadas por tamaño de camada al destete (maternales, $n = 4$), esta relación se aproximó a una parábola convexa, mientras que para la línea seleccionada por velocidad de crecimiento (paternal) esta relación se aproximó a una curva sinusoidal. La relación entre **nv** y **nd** fue similar entre las distintas líneas maternales: **nd** aumentó de forma lineal entre 2 y 11 nacidos vivos, estabilizándose a ≈ 11 destetados a partir de 12 nacidos vivos. En el caso de la línea paternal, se observaron dos fases lineales, una primera fase con una pendiente más abrupta entre 2 y 10 nacidos vivos (similar a la de las líneas maternales), seguida de una segunda fase de pendiente menos pronunciada entre 11 y 16 nacidos vivos. Al contrastar estas dos relaciones, los datos sugirieron un tamaño óptimo de camada (i.e. mejor compromiso entre **sl** y **nd**) alrededor de 12 nacidos vivos.

Palabras clave: tamaño de camada, principio de Lack, supervivencia.

Abstract

Based on the concepts developed by David L. Lack, who noted that nestling survival of altricial birds decreased as clutch size increased, the relation between litter size (offspring born alive: **ba**) and the offspring survival during lactation (**sl**) and the relation between **ba** and the number of offspring weaned (**nw**) of 5 rabbit strains developed at Universitat Politècnica de València were studied. The relationship between **ba** and **sl** was not linear. For lines selected to increase the litter size at weaning (maternal lines; $n = 4$), this relation approximated to a convex upward parabola, while for the line selected for growth rate (paternal line) this relation approximated to a sine curve. The relation between **ba** and **nw** was similar among maternal lines: the **nw** increased linearly between 2 and 11 born alive, reaching a plateau of ≈ 11 weaned offsprings for >12 born alive. For the paternal line, it was observed two linear phases, the first with a steeper slope between 2 and 10 **ba** followed by a second phase with a soft slope from 11 and 16 born alive. After matching the relation between **ba** and **sl** with the relation between **ba** and **nw**, the data suggests an optimal litter size (i.e. the better compromise between **sl** and **nw**) around 12 born alive.

Keywords: litter size, Lack's principle, survival.

Introducción

En 1947, el ornitólogo británico David Lumbert Lack (1910-1973) describió que si la mortalidad en el nido aumenta con el tamaño de la nidada, el tamaño óptimo de la nidada se definiría por el número de nacidos que produce el mayor número de polluelos que llegan a término, sin considerar otros factores. Este concepto es conocido como el principio de Lack. Actualmente, el debate científico sobre el principio de Lack se centra en el análisis de los factores que explican las desviaciones del tamaño óptimo de la nidada. Los principales factores que causan las desviaciones observadas están directamente relacionados con la simplicidad del modelo propuesto por Lack: (1) ausencia de relación entre tamaño de la nidada y la futura carrera reproductiva de los polluelos, (2) ausencia de efecto entre el tamaño de la nidada y la supervivencia de los padres, (3) ausencia de relación entre el esfuerzo reproductivo de dos nidadas consecutivas, (4) considerar que los animales ajustan perfectamente el tamaño de la nidada a la condición local, ... (Stearns, 1990; Capítulo 7). En este sentido, las investigaciones que han seguido el trabajo de Lack (desde 1970 hasta el presente) han concluido que el tamaño de nidada observado es inferior al definido por Lack.

Al trazar la relación entre la biología de las aves nidífugas (objeto de estudio de Lack) y los conejos observamos que, en ambos casos, los recién nacidos son completamente dependientes del cuidado parental hasta el momento del “destete” y, por lo tanto, la supervivencia en esta fase está condicionada a la capacidad de los padres para nutrir sus crías (aves: encontrar y traer alimentos; conejos: lactación). Por lo tanto, un aumento excesivo del número de nacidos vivos implicaría una reducción de la supervivencia de los neonatos.

En España, la selección de las líneas maternas de conejos se ha centrado, sobre todo, en aumentar el tamaño de la camada al destete y los resultados demuestran el éxito de esta estrategia (Baselga, 2003). Sin embargo, aunque la correlación genética entre el tamaño de camada al nacimiento y el tamaño de la camada al destete sea alta y positiva ($+0.83 \pm 0.04$; García y Baselga, 2002), el principio de Lack indica la existencia de una compensación entre el aumento del número de nacidos vivos y la supervivencia de los gazapos. Para testar la hipótesis de que los conejos, de forma similar a lo que ocurre en las aves nidífugas, ajustan el tamaño de camada para equilibrar el compromiso entre la supervivencia en lactación y el número de destetados, el presente trabajo se centra en describir dos relaciones: (1) entre el número de gazapos nacidos vivos y la tasa de supervivencia durante la lactación y (2) entre el número de nacidos vivos y el número de destetados en 5 líneas comerciales de conejos españolas (cuatro maternas y una paternal).

Material y métodos

Se han utilizado los datos de todas las generaciones de selección de las cinco líneas de conejos de la Universitat Politècnica de València desde su fundación (A: generación 43, V: 39, R: 25, H: 10 y LP: 8; Estany *et al.*, 1989; Estany *et al.*, 1992; Cifre *et al.*, 1998; Sánchez *et al.*, 2008) alojadas en las instalaciones de la universidad. La descripción de los criterios de selección, de las instalaciones, del manejo de los animales y del ciclo reproductivo durante todo el proceso de selección fue detallada por Ragab y Baselga (2011).

Para testar la hipótesis planteada, se ha utilizado el número de nacidos vivos (**nv**) y el número de destetados (**nd**) para calcular la tasa de supervivencia durante la lactación (**sl** = nd/nv). A continuación se han analizado (con el programa R; R Core Team, 2016) los datos de las líneas según los conceptos del principio de Lack (1947). Se ha trazado la relación entre **nv** y **sl** y entre **nv** y **nd**. A continuación, se ha utilizado el método de regresión polinómica local para dilucidar la relación entre estos dos pares de variables. Se usó una regresión polinómica local con parámetro de suavización igual a 0.75 y grado máximo del polinomio local igual a 2. En el análisis se han incluido solamente los partos entre $2 < nv < 20$, dado que la tasa de supervivencia de **nv** = 1 fue igual a 1 en todos los casos y fue bajo número de partos con más de 19 nacidos vivos ($n = 17$).

Resultados y discusión

La **Figura 1A** muestra la relación entre la supervivencia de los gazapos durante la lactación en función del número de nacidos para las líneas A, H, V, LP y R, y la **Figura 1B** la relación entre el número de destetados y los nacidos vivos.

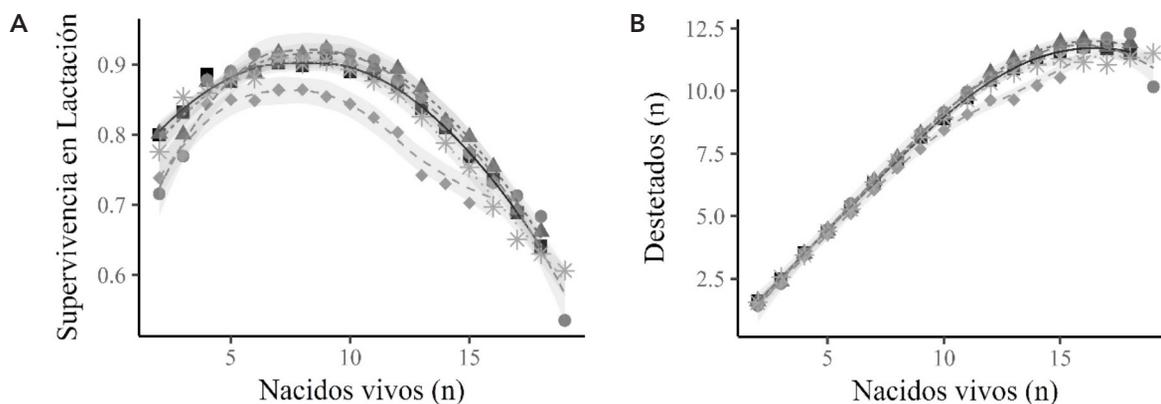


Figura 1. Tasa de supervivencia en lactación (A) y número de destetados (B) en función del número de nacidos vivos para las líneas A (■), H (▲), LP (●), R (◆) y V (*). Los puntos representan el promedio de los partos para cada línea ($n = 60343$), las curvas el ajuste promedio (loess) que describe la relación entre el par de variables en cuestión y la banda gris el intervalo de confianza de la curva promedio.

En el conjunto de las líneas, el promedio de **sl** ha aumentado de 0.77 (intervalo de confianza: [0.75, 0.78]) para 2 gazapos nacidos vivos, hasta alcanzar un valor máximo de 0.90 [0.896, 0.901] para camadas de 9 gazapos, descendiendo a valores inferiores a 0.85 para camadas de ≥ 13 nacidos vivos. Para las distintas líneas, se ha observado una **sl** máxima para camadas de 9 **nv** entre las hembras de las líneas A = 0.91 [0.89, 0.91], H = 0.92 [0.90, 0.94] y LP = 0.92 [0.91, 0.93]. En el caso de la línea V, la **sl** máxima fue de 0.90 [0.89, 0.92] para camadas entre 7 y 9 gazapos, mientras que para la línea paternal R la **sl** máxima fue inferior a la observada en las líneas maternas, siendo de 0.86 [0.85, 0.87] para camadas de 7 y 8 gazapos.

La regresión polinómica local para cada una de las líneas demuestra que la relación entre **sl** y **nv** es no lineal, aproximándose a una parábola convexa para las líneas maternas (A, H, V y LP). Entre estas líneas, la única diferencia perceptible en la forma de la parábola es el rápido aumento de la tasa de supervivencia entre las camadas de 2 y 5 nacidos vivos. De hecho, las líneas A, H y V han presentado un aumento menos importante (de 0.80 hasta 0.87) que el observado para la línea LP (de 0.72 hasta 0.89). Para la línea paternal R, la relación entre **sl** y **nv** fue distinta (véase la ausencia de solape en las regiones de incertidumbre entre 6 y 14 nacidos vivos), aproximándose a una curva sinusoidal; debido a una estabilización de **sl** a partir de 13 nacidos vivos en aproximadamente 0.72.

La relación entre **nd** y **nv** fue similar entre las distintas líneas maternas. Así, **nd** aumentó de forma lineal entre 2 y 11 nacidos vivos, estabilizándose a ≈ 11 destetados a partir de 12 nacidos vivos. Nuevamente, la forma de la curva para la línea paternal R fue distinta a las de las líneas maternas (ausencia de solape en las regiones de incertidumbre entre 10 y 15 nacidos vivos). En este caso hemos observado dos fases lineares, una primera fase con una pendiente más abrupta entre 2 y 10 **nv** (no distinta a la observada en las líneas maternas), seguida de una segunda fase entre 11 y 16 **nv** cuya pendiente fue menos pronunciada.

Si contrastamos la curva de supervivencia con la curva de destetados, el número de nacidos vivos que resulta en el mejor compromiso entre la tasa de supervivencia y el número de destetados fue de ≈ 12 gazapos, con una supervivencia media de 0.86 y 10.4 gazapos destetados, similar en todas las líneas.

Lack (1947) predijo que el tamaño de la nidada óptimo de una población se podría determinar por el promedio del máximo número de polluelos que las aves nidícolas son capaces de criar. En el caso de estas líneas de conejos, **nd** tiende a estabilizarse alrededor de 11 gazapos (**Figura 1B**), valor superior al promedio de destetados (**Tabla 1**).

Tabla 1. Estadística descriptiva (media \pm error típico).

| Línea | Nacidos Vivos (n) | Destetados (n) | Supervivencia* |
|-------|-------------------|----------------|------------------|
| A | 9,5 \pm 0,02 | 8,3 \pm 0,02 | 0,88 \pm 0,001 |
| H | 11,0 \pm 0,05 | 9,5 \pm 0,04 | 0,87 \pm 0,003 |
| LP | 11,1 \pm 0,04 | 9,5 \pm 0,03 | 0,87 \pm 0,002 |
| R | 7,9 \pm 0,02 | 6,6 \pm 0,03 | 0,83 \pm 0,002 |
| V | 10,6 \pm 0,02 | 9,0 \pm 0,02 | 0,85 \pm 0,001 |

*Tasa de supervivencia entre el nacimiento y el destete (rango de valores de 0 hasta 1).

Esta disparidad se debe a las frecuencias de los datos (**Figuras 2**). Por ejemplo, en el caso de la línea V, el 35% del total de partos observados se han situado entre 9 y 11 nacidos vivos.

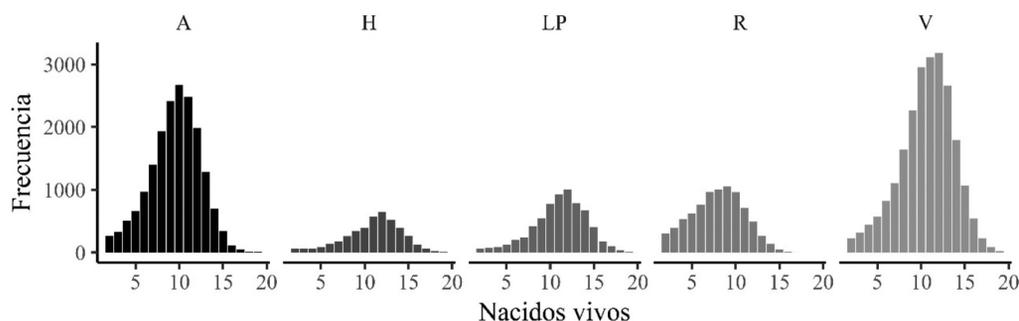


Figura 2. Frecuencia de camadas entre 1 y 19 gazapos nacidos vivos para las distintas líneas.

Como consecuencia, aunque ciertas conejas sean capaces de destetar hasta 18 gazapos (valor máximo observado), el **nd** más frecuente entre las líneas maternas se ha situado entre 10 y 11 gazapos (**Figura 3**), confirmando la relación observada en la **Figura 1B**. Se ha de destacar la gran cantidad de partos con apenas un (1) gazapo destetado ($n = 3964$ partos) como un dato normal.

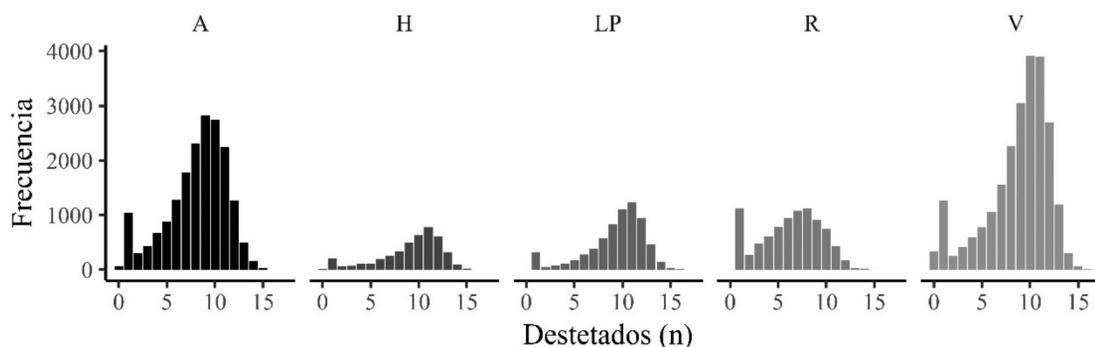


Figura 3. Frecuencia de camadas entre 1 y 19 gazapos destetados para las distintas líneas.

De modo global, la aplicación del principio de Lack a las líneas de conejos demuestra la existencia de un tamaño de camada al nacimiento que optimiza el compromiso entre el aumento del número de nacidos vivos y la supervivencia de los gazapos durante la lactación. La forma de parábola convexa de la curva de supervivencia en función del **nv** indica la existencia de una asíntota para el **nd**, de modo que al seleccionar por tamaño de camada al destete la frecuencia de camadas alrededor de 12 nacidos vivos tiende a aumentar (Figura 2). Sin embargo, cabe resaltar que estas observaciones dependen directamente de que la relación entre **sl** y **nv** sea estable a lo largo de las generaciones (en un análisis preliminar no se ha observado cambios relevantes en la forma de las curvas a lo largo de las generaciones).

En conclusión, la continuidad de los programas de selección por tamaño de camada al destete tiende a aumentar el promedio de destetados por medio de la reducción de la frecuencia de camadas con un **nv** inferior a 9 y el aumento la frecuencia de camadas ≈ 12 gazapos, resultando en un **nv** que conduce al mejor compromiso entre **sl** y el **nd**. De igual forma, la curva de supervivencia podría desplazarse a valores superiores (véase la diferencia entre las líneas maternas y la línea paternal R), aunque un cambio en la forma de la curva nos parezca biológicamente poco probable.

Agradecimientos

A Manuel Baselga ("Manolo"), "padre" de las líneas de conejos de la Universitat Politècnica de València, formador y amigo. A Juan Pablo Sánchez y a Enrique Blas por sus comentarios en las primeras versiones de este trabajo, a todos los investigadores, técnicos y alumnos que han pasado por las granjas del Poli y que han hecho posible este estudio. A los distintos proyectos de investigación financiados por el Estado Español.

Bibliografía

- Baselga M. 2003. Genetic improvement of meat rabbits. Programs and diffusion. In: 8th World Rabbit Congress. Puebla, México, pp. 1-13.
- Cifre J., Baselga M., García-Ximénez F., Vicente J.S. 1998. Performance of a hyperprolific rabbit line I. Litter size traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 115(1-6): 131-138.
- 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. *Livestock Production Science*, 21: 67-75.
- Estany J., Camacho J., Baselga M., Blasco A. 1992. Selection response of growth rate in rabbits for meat production. *Genetics Selection Evolution*, 24: 527-537.
- García M.L., Baselga M. 2002. Estimation of genetic response to selection in litter size of rabbits using a cryopreserved control population. *Livestock Production Science*, 74(1): 45-53.

Lack D. 1947. *The significance of clutch-size*. *Ibis*, 89(2): 302-352.

Ragab M., Baselga M. 2011. *A comparison of reproductive traits of four maternal lines of rabbits selected for litter size at weaning and founded on different criteria*. *Livestock Science*, 136: 201-206.

R Core Team. 2016. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

Sánchez J.P., Theilgaard P., Mínguez C., Baselga M. 2008. *Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line*. *Journal of Animal Science*, 86(3): 515-525.

Stearns S.C. 1990. *The evolution of life histories*. Oxford, United Kingdom. pp. 249.

La movilización de grasa entre la segunda inseminación y el destete está positivamente relacionada con el éxito reproductivo en conejas primíparas

Fat mobilization between second insemination and weaning is positively related to the reproductive success in primiparous does

Delgado R., Abad-Guamán R., Carabaño R., García J., Nicodemus N.*

Departamento de Producción Agraria, ETSIAAB, Universidad Politécnica de Madrid

* Dirección de contacto: nuria.nicodemus@upm.es

Resumen

Se registraron los rendimientos productivos y condición corporal mediante impedancia bioeléctrica de 172 conejas en las 5 primeras inseminaciones (IA). Estas se realizaron 11 días tras el parto, y el destete a los 25 d de lactación. El periodo experimental comenzó el día de la primera IA positiva de las conejas nulíparas y terminó el día del parto correspondiente a la quinta IA. Las conejas se clasificaron a posteriori en dos grupos: Elite (conejas gestantes en todas las IA) y Normal (conejas que completaron al menos una lactación). En la primera IA las conejas del grupo Elite pesaron menos (3930 vs 4087 g; $P = 0,025$) y tuvieron menos proporción de grasa (15,7 vs 17,2%; $P = 0,042$) que el grupo Normal, pero una proporción de proteína similar (17,8 vs 17,9%). Además, las conejas Elite mostraron un mayor contenido en proteína en el primer parto (17,9 vs 17,7%; $P = 0,012$) y en el primer destete (18,1 vs 17,9%; $P = 0,027$). Estos dos grupos no difirieron en la movilización/deposición de grasa o proteína entre la IA1-parto 1 y el parto 1-IA2. Sin embargo, entre la IA2 y el destete 1 se observó que las conejas del grupo Elite movilizaron el doble de grasa que el grupo Normal (27,9 vs 14,1%; $P = 0.004$).

Palabras clave: composición química corporal, movilización de grasa, éxito reproductivo, conejas reproductoras.

Abstract

Body condition using bioelectrical impedance and productive traits were recorded in 172 rabbit does along the first 5 inseminations (AI) (performed 11 d post-partum and weaning at 25 d). The experimental period lasted from the first positive AI to the parturition corresponding to the 5th AI. Rabbit does were classified a posteriori in two groups: Elite (pregnant in all AI) and Normal rabbit does (at least, once lactation period completed). In the first AI, Elite rabbit does were lighter (3930 vs 4087 g; $P = 0.025$) and had lower body fat proportion (15.7 vs 17.2%; $P = 0.042$) than the other rabbit does, but they had a similar body protein content (17.8 vs 17.9%). Besides, the Elite group showed a higher body protein proportion at first parturition (17.9 vs 17.7%; $P = 0.012$) and first weaning (18.1 vs 17.9%; $P = 0.027$). Fat and protein mobilization/deposition between AI1-parturition 1 or parturition 1-AI2 did not differ between the two groups, but Elite rabbit does showed the double fat mobilization between AI 2 and first weaning (27.9 vs 14.1%; $P = 0.004$).

Keywords: body chemical composition, fat mobilization, reproductive success, rabbit does.

Introducción

El mayor riesgo de eliminación de las conejas reproductoras se produce en los tres primeros ciclos (inseminaciones), siendo dos de las causas más importantes la baja productividad (infertilidad) y la mala condición corporal (Rosell y de la Fuente, 2009). La segunda inseminación es la que mayor dificultad presenta muy probablemente debido al balance energético negativo experimentado al final de la primera gestación (Pascual et al., 2013) y/o al inicio de la primera lactación (Fortun-Lamothe et al., 2006). La fertilidad de la segunda inseminación parece que

depende del grado de madurez de la coneja en la primera inseminación, marcado por su contenido en proteína y grasa corporal (Taghouti *et al.*, 2011), y/o por una mejor gestión de las reservas alrededor del primer parto (Savietto *et al.*, 2016). En estas circunstancias la línea longeva de la UPV obtiene mejores resultados en comparación con la hiperprolífica, muy probablemente debido a su mayor plasticidad en la gestión de sus reservas corporales (Theilgaard *et al.*, 2009). Por otra parte, Theilgaard *et al.* (2006) observaron 10 d después del parto que las conejas con niveles de grasa corporal muy bajos o muy altos, o con mayor movilización de reservas corporales entre los días 10 y 21 de lactación tuvieron mayor riesgo de ser eliminadas. En este contexto, el tipo de pienso (siempre que cumpla con las recomendaciones) no parece que modifique la condición corporal (Theilgaard *et al.*, 2006; Romero *et al.*, 2011; Delgado *et al.*, 2014 y 2017 y datos no publicados). El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la evolución de la condición corporal de las conejas durante las primeras cinco inseminaciones con el fin de caracterizar las diferencias existentes entre las conejas con mayor éxito reproductivo y las normales, así como identificar alguna variable que permita predecirlo al comienzo de su vida productiva.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó utilizando 172 conejas Neozelandés blanco × California (Línea V, UPV) provenientes de dos experimentos consecutivos (84 y 88 conejas/experimento. Delgado *et al.*, 2014 y 2017). Las conejas se inseminaron a los 130 d de edad con el peso y la composición corporal indicados en la **Tabla 1**. Las inseminaciones (IA) se realizaron 11 días tras el parto, correspondiendo con un intervalo teórico entre partos de 42 d, mientras que el destete se realizó a los 25 d de lactación. El semen utilizado procedió de machos pertenecientes a la línea R (UPV). El periodo experimental comenzó el día de la primera IA positiva de las conejas nulíparas y terminó el día del parto correspondiente a la quinta IA. Las conejas que tuvieron dos IA consecutivas negativas dejaron de ser controladas. La composición corporal de las conejas (humedad, proteína, grasa cenizas y energía) se estimó mediante las ecuaciones de regresión desarrolladas por Nicodemus *et al.* (2009) y Pereda (2010), a partir de los datos de impedancia bioeléctrica (BIA), el peso de la coneja y su estado fisiológico. Las medidas de BIA se realizaron el día de la inseminación IA, inmediatamente tras el parto y al destete. Las conejas se clasificaron a posteriori en dos grupos: Elite (conejas gestantes en todas las IA) y Normal (completaron al menos una lactación). La composición corporal se analizó mediante un modelo mixto de medidas repetidas donde el factor de repetición fueron los eventos reproductivos a lo largo del tiempo (IA, parto, destete) y la coneja se consideró como un efecto aleatorio. El cálculo de la influencia de la movilización de las reservas corporales sobre el éxito reproductivo (n° gestaciones/ n° total inseminaciones) de las conejas se analizó mediante una regresión logística con el procedimiento GENMOD del SAS utilizando una distribución binomial.

Resultados y discusión

La fertilidad en la IA 1 fue del 100%, mientras que la IA 2 disminuyó hasta el 56,4%. En la tercera, cuarta y quinta IA la fertilidad fue del 80,8%, 72,4% y 73,3%, respectivamente. En la **Figura 1A** se representa la evolución temporal en los diferentes momentos productivos/reproductivos (5 ciclos reproductivos) de todas las conejas consideradas en el estudio ($P_{\text{Tiempo}} < 0,001$ para todas las variables), mientras que en la **Figura 1B** se representa solamente la evolución de las conejas que presentaron cinco inseminaciones exitosas consecutivas ($n = 42$). En la primera IA, las conejas del grupo Elite, que supusieron un 24% del total, pesaron menos (157 g de media; $P = 0,025$; **Tabla 1**) y tuvieron 1,5 unidades porcentuales menos de grasa que las conejas del grupo Normal ($P = 0,042$), mostrando una proporción de proteína similar, 17,86%, siendo este un valor adecuado de madurez según Taghouti *et al.* (2011). Estas diferencias se mantuvieron en el primer parto y la segunda IA. Además, las conejas Elite mostraron un mayor contenido en proteína en el primer parto (0,2 unidades porcentuales; $P = 0,012$) y en el primer destete (0,2 unidades porcentuales; $P = 0,027$), y mayor contenido en cenizas en el primer parto y en la segunda IA (0,05 unidades porcentuales; $P \leq 0,024$). Estos dos grupos no difirieron en la movilización/deposición de grasa o proteína entre la IA1-parto 1 y el parto 1-IA2 (**Figura 1**). Se observó una gran movilización de reservas en el primer periodo, probablemente al final del mismo, y de recuperación parcial de las mismas en el segundo, lo que concuerda con lo observado por Savietto *et al.* (2016). Sin embargo, entre la IA2 y el destete 1 se observó que las conejas del grupo Elite movilizaron el doble de grasa que el grupo Normal (27,9 vs. 14,1%, respecto a su nivel de grasa en la IA2; $P = 0,004$. **Figura 1B**). Esto permitió desarrollar una regresión logística con el fin de predecir el éxito reproductivo en función de esta movilización de grasa (**Figura 2**). Así, tomando como referencia el éxito reproductivo de las conejas Elite, que fue de un 100%, el de las del grupo Normal fue de un 66% ($P < 0,001$). Esta movilización de grasa es independiente del tipo de pienso suministrado a las conejas y muy probablemente tendría un origen genético (Pascual *et al.*, 2013). De acuerdo con estos autores las conejas que gestionan mejor sus

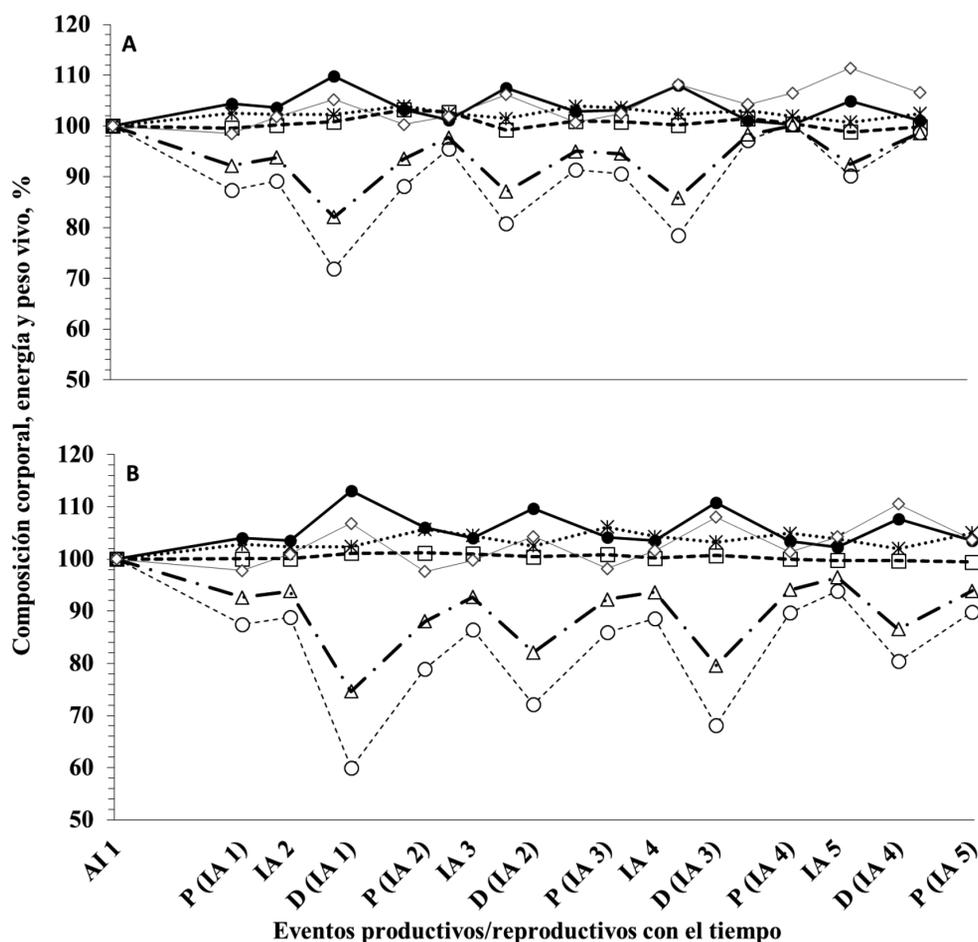


Figura 1. Evolución de la composición corporal, energía y peso vivo (Humedad ●, proteína □, grasa ○, cenizas *, energía Δ, y peso vivo ◇) con el tiempo (inseminación artificial –IA–, parto –P– y destete –D–) de todas las conejas de los dos experimentos (n = 172. Figura. 1A) o solo de aquellas que tuvieron 5 partos consecutivos (n = 42. Fig. 1B). Los valores obtenidos en la primera inseminación (IA 1) se consideraron como 100 (ver Tabla 1) y los valores obtenidos después se expresaron como porcentaje del valor obtenido en la IA1. $P_{Tiempo} < 0,001$ en ambas figuras. IA 1, IA 2, IA 3, IA4 e IA 5: 1ª, 2ª 3ª, 4ª y 5ª inseminación artificial. P (IA 1), P (IA 2), P (IA 3), P (IA 4) y P (IA 5): Parto correspondiente a IA 1, IA 2, IA 3, IA 4 e IA 5, respectivamente. D (IA 1), D (IA 2), D (IA 3), D (IA 4) y D (IA 5): Destete correspondiente a IA 1, IA 2, IA 3, IA 4 e IA 5, respectivamente.

Tabla 1. Composición corporal, energía y peso vivo de las conejas en la inseminación artificial 1.

| | Peso vivo* | | | Humedad* | | | Proteína | | |
|--------|------------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| | Todas | Elite | Normal | Todas | Elite | Normal | Todas | Elite | Normal |
| Media† | 4048 | 3930 | 4087 | 58,3 | 59,4 | 58,0 | 17,83 | 17,91 | 17,81 |
| DE | 317 | 282 | 320 | 2,57 | 2,95 | 2,34 | 0,47 | 0,50 | 0,45 |
| Mín | 3364 | 3364 | 3463 | 51,0 | 54,0 | 51,0 | 16,00 | 16,40 | 16,00 |
| Máx | 5104 | 4655 | 5104 | 66,4 | 66,4 | 65,0 | 18,60 | 18,60 | 18,50 |
| P | | 0,025 | | | 0,041 | | | 0,34 | |
| | Grasa* | | | Cenizas | | | Energía* | | |
| | Todas | Elite | Normal | Todas | Elite | Normal | Todas | Elite | Normal |
| Media† | 16,8 | 15,7 | 17,2 | 3,03 | 3,07 | 3,02 | 1193 | 1147 | 1208 |
| DE | 2,71 | 3,01 | 2,51 | 0,13 | 0,13 | 0,13 | 110 | 126 | 100 |
| Mín | 8,70 | 8,70 | 10,1 | 2,60 | 2,80 | 2,60 | 848 | 848 | 907 |
| Máx | 24,9 | 21,7 | 24,9 | 3,30 | 3,30 | 3,20 | 1507 | 1377 | 1507 |
| P | | 0,042 | | | 0,095 | | | 0,041 | |

† N: todas = 172; Elite = 42; Resto = 130. Las variables marcadas con * indican que las conejas Elite difieren del Resto (P < 0,05). Unidades: Peso vivo: g; Humedad, proteína, grasa y cenizas: % peso vivo; Energía: kJ/100 g peso vivo. DE: desviación estándar

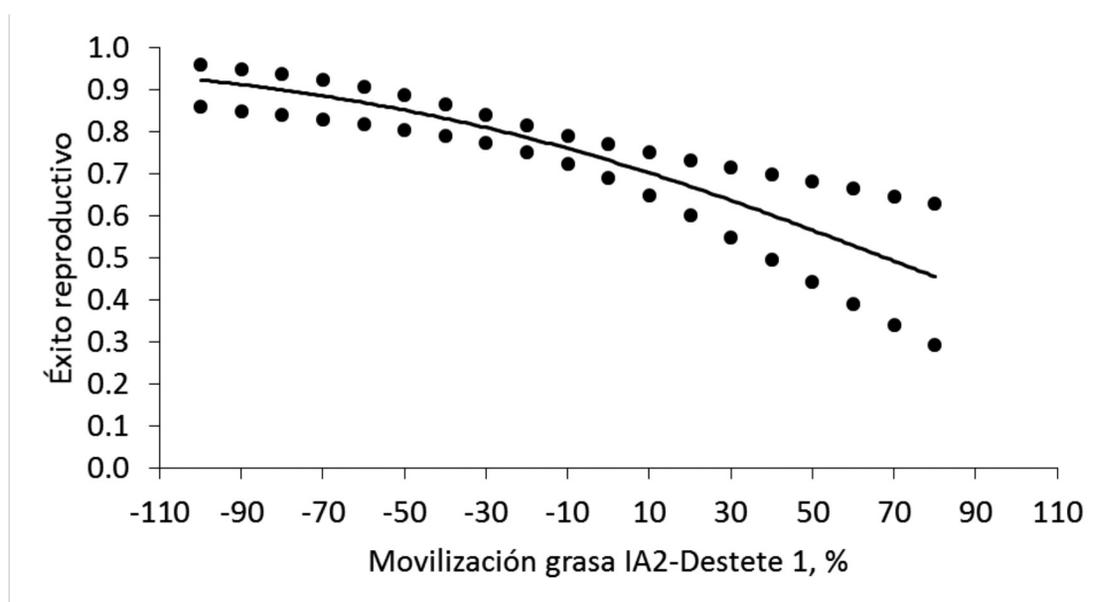


Figura 2. Estimación del éxito reproductivo en las primeras 5 IA a partir de la movilización de grasa entre la IA2 y el destete 1 ($P < 0,01$; Desviación del modelo= 0,95. Max/Min: Éxito reproductivo: 0,33-1, Movilización grasa IA2-destete 1: -96,7 a 78,2). La línea punteada indica el intervalo de confianza del 95%.

reservas tendrían menor riesgo de eliminación, probablemente debido a su mayor éxito reproductivo. Sería interesante identificar de manera temprana estas conejas así como los factores ambientales que pudieran estar condicionando su productividad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al proyecto AGL2011-23885 del Ministerio de Ciencia e Innovación y por la beca FPI obtenida por Rebeca Delgado (BES-2012-055392).

Bibliografía

- Delgado R., Abad-Guamán R., Nicodemus N., Villamide M.J., Ruíz N., Menoyo D., Carabaño R., García J. 2014. Efecto del nivel de fibra soluble y del nivel de ácidos grasos w_3 sobre el rendimiento de las conejas y sus camadas durante las dos primeras lactaciones. *XXXIX Symposium de Cunicultura*. pp. 82-85. Tudela.
- Delgado R., Abad-Guamán R., de la Mata D., 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.* <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.02.015>
- Fortun-Lamothe L. 2006. Energy balance and reproductive performance in rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.*, 93: 1-15.
- Nicodemus N., Pereda N., Romero C., Rebollar P.G. 2009. Évaluatuaion de la technique d'impédance bioélectrique (IBE) pour estimer la composition corporelle de lapines reproductrices. In: *Proc. 13èmes Journées de la Recherche Cunicole*. p. 109-112.
- Pascual J.J., Saviotto D., Cervera C., Baselga M. 2013. Resources allocation in reproductive rabbit does: a review of feeding and genetic strategies for suitable performance. *World Rabbit Sci.*, 21: 123-144.
- Pereda N. 2010. Evaluación de la técnica del Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA) para predecir la composición corporal: aplicación en conejas sometidas a diferentes sistemas de alimentación durante la recría, PhD Thesis, UPM., Madrid, Spain.
- Romero C., Nicodemus N., Martínez de Morentin C.G., García A.I., De Blas C. 2011. Effect of grinding size of barley and dehydrated alfalfa on performance and body composition of does during their early reproductive cycles. *Livest. Sci.*, 140: 55-61.

Rosell J.M., de la Fuente L.F. 2009. *Culling and mortality in breeding rabbits. Prev. Vet. Med.*, 88: 120-127.

Savietto D., Marono S., Martínez I., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Pascual J.J. 2016. *Patterns of body condition use and its impact on fertility. World Rabbit Sci.*, 24: 39-45.

Taghouti M., Macchiavelli R., García J., Demey J., Nicodemus N. 2011. *Relación entre la composición química corporal, la fertilidad y la prolificidad en conejas primíparas. XXXVI Symposium de Cunicultura. pp. 85-88. Peñíscola.*

Theilgaard P., Sánchez J.P., Pascual J.J., Friggens N.C., Baselga M. 2006. *Effect of body fatness and selection for prolificacy on survival rabbit does assessed using a cryopreserved control population. Livest. Sci.*, 103: 65-73.

Theilgaard P., Baselga M., Blas E., Friggens N.C., Cervera C., Pascual J.J. 2009. *Differences in productive robustness in rabbits selected for reproductive longevity or litter size. Animal*, 3: 637-646.

Predicción de la producción de leche de la coneja en lactaciones de 25 días a partir del peso de la camada

Prediction of milk production of rabbit does in lactations of 25 days from the litter weight

Farias C., Delgado R, Abad-Guamán R., Villamide M.J., Menoyo D., Carabaño R., Garcia J., Nicodemus N.*

Departamento de Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid

E-mail: nuria.nicodemus@upm.es

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido predecir la producción de leche de conejas en lactaciones de 25 d. Se utilizaron 116 conejas (grupo de calibración). Las inseminaciones se realizaron 11 días post-parto, correspondiendo con intervalo teórico entre partos de 42 días, mientras que el destete se realizó a los 25 días de lactación. El periodo experimental comenzó el día de la primera inseminación artificial de las conejas nulíparas y terminó el día del parto correspondiente a la quinta inseminación. Para obtener la producción de leche estimada se utilizaron las conejas que completaron al menos dos lactaciones. La producción de leche (PL) se estimó a partir de los datos de peso de camada a 20 días y el número de parto. Se utilizaron otras 16 conejas para validar las ecuaciones obtenidas (grupo de validación). Las ecuaciones obtenidas fueron: $PL_{\text{primíparas}} = 983,7 (\pm 141,7) + 1,534 (\pm 0,039) \times \text{Peso camada 20 d}$; y $PL_{\text{multíparas}} = 983,7 (\pm 141,7) + 1,582 (\pm 0,047) \times \text{Peso camada 20 d}$. El error medio de predicción relativa fue menor para la primera lactación que para la segunda y sucesivas lactaciones (4,68 vs. 7,06%).

Palabras clave: producción de leche, peso de la camada, conejas reproductoras.

Abstract

The aim of this work was to predict the milk production of rabbit does with lactations periods of 25 d from litter weight at 20 d of lactation and number of parturition. Experimental period lasted from 1st to 5th insemination (performed 11 d post-partum). Milk production (MP; at least two lactations/rabbit doe) and litter weight at 20 d of lactation were recorded in 116 rabbits (calibration group). Another 16 rabbits were used to validate the model obtained (validation group). The prediction equations obtained for milk production were: $MP_{\text{primiparous}} = 983.7 (\pm 141.7) + 1.534 (\pm 0.039) \times \text{Litter weight at 20 d}$; and $MP_{\text{multiparous}} = 983.7 (\pm 141.7) + 1.582 (\pm 0.047) \times \text{Litter weight at 20 d}$. The mean prediction relative error was lower for the first lactation than for the second and successive lactations (4.68 vs. 7.06%).

Keywords: milk production, litter weight, rabbit does.

Introducción

La producción de leche de la coneja es un dato relevante en los experimentos de nutrición. El control de la producción lechera de la coneja se hace por diferencia de pesada antes y después de amamantar a la camada y tiene un coste importante en términos de mano de obra, por lo que resulta interesante poder estimarla a partir de alguna variable más sencilla de medir. La mejor estima de la producción total de leche durante la lactación se realiza a partir del peso de la camada a los 21 d de edad, si bien cuando la lactación se prolonga 4 semanas o más se puede cometer un error de al menos un 18% (Lebas, 1969). Estos resultados fueron confirmados más recientemente por De Blas *et al.* (1995) en lactaciones de 30 d y por Fortun-Lamothe y Savater (2003), si bien

en este último trabajo solo controlaron la producción de leche hasta el día 21 de lactación. En cambio, Sabater *et al.* (1993) obtuvieron una correlación ligeramente superior con el peso de la camada el día 14 de lactación. El objetivo de este trabajo ha sido predecir la producción de leche en lactaciones de 25 d para lo que no se disponen de datos.

Material y métodos

El trabajo se realizó utilizando 116 conejas (grupo de calibración) Neozelandés blanco x California (Línea V, UPV) provenientes de dos experimentos consecutivos (66 y 50 conejas/experimento). Las conejas se inseminaron a los 130 días de edad con un peso vivo (PV) de $4,00 \pm 0,27$ kg. Las inseminaciones se realizaron 11 días postparto, correspondiendo con intervalo teórico entre partos de 42 días, mientras que el destete se realizó a los 25 días de lactación, con el fin de manifestar más claramente los efectos del destete e incrementar el tiempo de recuperación de las conejas. El semen utilizado procedió de machos pertenecientes a la línea R (UPV). El periodo experimental comenzó el día de la primera inseminación artificial de las conejas nulíparas y terminó el día del parto correspondiente a la quinta inseminación. Para obtener la producción de leche estimada se utilizaron las conejas que completaron al menos dos lactaciones. Los intervalos de variación de las variables utilizadas se muestran en la **Tabla 1**. La producción de leche se estimó a partir de los datos de peso de camada a 20 días y el número de parto real. Las camadas se pesaron a los 20 d post-parto. La producción de leche se analizó mediante un modelo mixto de medidas repetidas que incluyó como covariable el peso de la camada a los 20 d, y su interacción con el número de parto (efecto fijo), siendo la coneja un efecto aleatorio. Los modelos obtenidos fueron validados con 16 conejas elegidas al azar y no utilizadas anteriormente (grupo de validación).

Resultados y discusión

La interacción entre el peso de la camada a los 20 d y el número de parto fue significativa ($P = 0,001$) debido a la diferencia en la producción de leche entre la primera lactación y lactaciones sucesivas. Sin embargo, no se observaron diferencias importantes a partir de la segunda lactación. Por esta razón, se estableció un modelo de predicción para la producción de leche en la primera lactación y otro para lactaciones sucesivas (independientemente de su número. **Tabla 2**). En la **Tabla 1**, se muestran los valores estimados con estos modelos tanto para el grupo de calibración como para el grupo de validación y en la **Tabla 2** se muestra el error medio de predicción relativo. De este valor se deduce que la predicción de la producción de leche es mucho más precisa en la primera lactación, probablemente debido a que la variabilidad es menor que en lactaciones sucesivas (**Tabla 1**). Además, se puede observar que la predicción de la producción de leche empeora cuando nos acercamos a los valores extremos del intervalo, mientras que cuando se encuentra cerca de la media la predicción es mucho más ajustada, como era de esperar. Este último efecto está acentuado debido al mayor intervalo de las observaciones utilizadas en comparación con otros trabajos (Fortun-Lamothe y Savater, 2003).

Tabla 1. Intervalos de variación del peso de la camada y de la producción de leche en conejas primíparas y múltiparas (grupo de calibración, n=116, y de validación, n = 16).

| Grupo de calibración | Primíparas | | | Múltiparas | | |
|----------------------|------------------|---------------|-------------------|------------------|---------------|-------------------|
| | Peso camada 20 d | P. leche real | P. leche estimada | Peso camada 20 d | P. leche real | P. leche estimada |
| Media | 2631 | 5024 | 5019 | 2988 | 5719 | 5704 |
| Mínimo | 1002 | 1457 | 2521 | 1048 | 2211 | 2641 |
| Máximo | 3245 | 6321 | 5961 | 4198 | 7430 | 7689 |
| Desviación estándar | 313 | 644 | 481 | 488 | 856 | 790 |

| Grupo de validación | Primíparas | | | Múltiparas | | |
|---------------------|------------------|---------------|-------------------|------------------|---------------|-------------------|
| | Peso camada 20 d | P. leche real | P. leche estimada | Peso camada 20 d | P. leche real | P. leche estimada |
| Media | 2641 | 4997 | 5034 | 2867 | 5371 | 5518 |
| Mínimo | 1815 | 3286 | 3767 | 877 | 1566 | 2371 |
| Máximo | 3196 | 5966 | 5886 | 3666 | 6743 | 6782 |
| Desviación estándar | 378 | 666 | 579 | 621 | 1231 | 982 |

Tabla 2. Modelos seleccionados para la producción de leche de conejas con lactaciones de 25 d (n = 116).

| Producción de leche 0-25 d | Modelo | P-valor | EMPR |
|-------------------------------|---|---------|------|
| Primera lactación | $983,7 (\pm 141,7) + 1,5338 (\pm 0,039) \times \text{Peso camada 20 d}$ | <0,001 | 4,68 |
| Segunda lactación y sucesivas | $983,7 (\pm 141,7) + 1,5816 (\pm 0,047) \times \text{Peso camada 20 d}$ | <0,001 | 7,06 |

EMPR: Error medio de predicción relativo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto AGL2015-66485-R y MEDGAN ABI-2913.

Bibliografía

- De Blas J.C., Taboada E., Mateos G.G., Nicodemus N., Méndez J. 1995. Effect of substitution of starch for fiber and fat in isoenergetic diets on nutrient digestibility and reproductive performance of rabbits. *J. Anim. Sci.*, 73: 1131-1137.
- Fortun-Lamothe L., Sabater F. 2003. Estimation de la production laitiere des lapines a partir de la croissance des laperaux. *10emes Journées de la Recherche Cunicole*. pp. 69-72. Paris.
- Lebas F. 1969. Alimentation lactée et croissance pondérale du lapin avant sevrage. *Ann. Zootech.*, 18: 197-208.
- Sabater M.C., Tolosa M.C., Cervera C. 1993. Factores de variación de la curva de lactación de la coneja. *Archivos de Zootecnia*, 42: 105-114.

PATOLOGÍA

- **Las nuevas metodologías moleculares y los cultivos de órganos han abierto una nueva perspectiva en la investigación de la Enteropatía Epizootica del Conejo**

Bäuerl C., Cabrera Rubio R., Gallina O., Valero A., Collado M.C., Pérez Martínez G.

- **Tipado capsular de *Pasteurella multocida* mediante PCR en tiempo real y su aplicación directa en muestras clínicas de conejo**

Arnal J.L., Sanz C., Serrano D., Benito A., Chacón G., Fernández A.

- **Detección y aislamiento de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo RHDV2/b en micromamíferos silvestres en el Norte de España**

Mendoza M., Calvete C., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Luján Ll., Molín J., Calvo A.J., Monroy F., Calvo J.H.

- **Respuesta inmunitaria del conejo frente a *Staphylococcus aureus***

Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Moreno-Grúa E., Corpa J.M., Selva L., Viana D.

- **Estado actual de las cepas de *Staphylococcus aureus* en granjas cunícolas**

Pérez-Fuentes S., Muñoz-Silvestre A., Moreno-Grúa E., Viana D., Selva L., Corpa J.M.

- **Evolución de la virulencia de *Staphylococcus aureus* en los últimos 15 años**

Moreno-Grúa E., Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Corpa J.M., Viana D., Selva L.

- **Detección mediante PCR-dúplex a tiempo real y aislamiento de virus RHDV2/b durante un brote de enteropatía mucoide**

Mendoza M., Calvete C., Comenge J., Sarto M.P., Jiménez de Bagüés M.P., Calvo J.H.

- **Primeiro caso de deteção de *Talaromyces marneffe* numa lebre (*Lepus granatensis*)**

Alves D., Matos A.C., Saraiva S., Soares A.S., Figueira L., Pinheiro V., Matos M., Coelho A.C.

Las nuevas metodologías moleculares y los cultivos de órganos han abierto una nueva perspectiva en la investigación de la Enteropatía Epizoótica del Conejo

New molecular and organ culture methods opened new research perspectives for the Epizootic Rabbit Enteropathy

Bäuerl C.¹, Cabrera Rubio R.², Gallina O.¹, Valero A.¹, Collado M.C.¹, Pérez Martínez G.^{1*}

¹ Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (CSIC), Valencia, España

² Dirección actual: TEAGASC Food Research Centre, Moorepark, Fermoy, Co., Cork, Irlanda

* Dirección de contacto: gaspar.perez@iata.csic.es

Resumen

Hasta el momento diversos métodos se han utilizado para estudiar la etiología de la Enteropatía Epizoótica del Conejo (EEC). Con el fin de desarrollar un método *in vitro* que permita buscar las bacterias causantes, se han utilizado explantes de intestino y cultivos celulares para determinar la expresión de marcadores inflamatorios provocada por filtrados cecales de EEC. El método *in vitro* desarrollado para la selección de posibles causantes deberá contrastarse con ensayos de infección controlada. También aplicamos nuevas técnicas de secuenciación para comparar las poblaciones bacterianas (microbiota) del ciego de conejos de granjas que usan o no antibióticos (con diferente incidencia de EEC) y de animales salvajes. Los datos obtenidos sugieren que los animales criados con antibióticos pueden carecer de bacterias protectoras, cuyo aislamiento será nuestro próximo objetivo.

Palabras clave: Nuevas metodologías, Enteropatía Epizoótica del Conejo (EEC), microbiota cecal, antibióticos, bacterias protectoras, posibles patógenos.

Abstract

Different methods have been used in numerous attempts to characterize aetiology of Epizootic Rabbit Enteropathy (ERE). In order to develop a new *in vitro* method that would allow the screening of causative agents, we used intestinal explant and cell cultures to determine the expression of inflammatory markers induced by ERE cecal filtrates. The *in vitro* method developed for the selection of possible pathogens must now be cross checked with controlled infection assays. Also, new sequencing techniques have been used to compare cecal bacterial populations (microbiota) from rabbits in farms that use antibiotics or that do not use them with different ERE incidence-, and also from wild rabbits. Data obtained suggest that animals bred with antibiotics may lack protective bacteria, the isolation of these bacteria are our next research objective.

Keywords: New methodologies, Epizootic Rabbit Enteropathy (ERE), cecal microbiota, antibiotics, protective bacteria, putative pathogens.

Introducción

La Enteropatía Epizoótica del Conejo (EEC) ocurre en las primeras semanas de vida, con frecuencia tras el destete (Lebas, 2001). Otros animales también padecen enteropatías en el destete o la lactancia lo que denota la fragilidad de los animales en este periodo (Sekirov and Finlay, 2009). Los primeros casos de EEC documentados en USA datan de 1929 y en Gran Bretaña de 1943 (ver revisión de Kruiningen and Williams, 1972). Sin embargo, sólo al final de los años 90 se describe como un problema de dimensiones alarmantes en Europa (ver revisión de Licois *et al.*, 2005). Pronto se observó experimentalmente que la transmisión de esta enfermedad se controla con antibióticos (Kruiningen and Williams, 1972), por lo que su etiología se asoció a un agente bacteriano. Pero transcurrido todo este tiempo, no se ha podido todavía encontrar la bacteria causante ni reproducir la enferme-

dad en el 100% de los casos. Con el fin de determinar el agente causante de la EEC, en diversos estudios previos se trató de reproducir la enfermedad inoculando conejos sanos con heces (Kruiningen and Williams, 1972) y filtrados de contenido del ciego (TEC1-4) (Huybens et al., 2009) de conejos enfermos. La infección vírica se descartó en los primeros ensayos, y se determinó que podrían haber dos factores implicados en la patogénesis de EEC: una toxina y una bacteria (Szalo et al., 2007). Aunque se mostraron con eficacia variable, dichos filtrados de contenido ciego han logrado reproducir la enfermedad, resultando la única herramienta utilizable como prueba de patogénesis.

Diversos trabajos recientes describen la microbiota intestinal de conejos que ha sido recientemente caracterizada por técnicas moleculares y de secuenciación masiva del rDNA 16S (Bäuerl et al., 2014; Combes et al., 2011; Huybens et al., 2013; Zeng et al., 2015). En un trabajo previo (Bäuerl et al., 2014) nuestro grupo estudió la microbiota de muestras de ciego en conejos sanos, tratados o no con antibióticos y enfermos de EEC. Los resultados indicaron que el ciego de conejos sanos está dominado por bacterias de la familia Clostridia (78%), Bacteroidia (15,7%), Verrucomicrobiae (2,4%) y Mollicutes (2,4%). Parece muy interesante que en la granja estudiada, en la que se administraba pienso medicado, el perfil de poblaciones bacterianas de los animales sanos, no se diferenciaba de los sanos aunque se les hubiera retirado los antibióticos. Los animales con EEC mostraron una marcada disbiosis con reducción de la diversidad de especies y disminuyeron los géneros dominantes en animales sanos, *Alistipes* y *Ruminococcus*, acompañados de un incremento significativo de los géneros *Bacterioides*, *Akkermansia* y *Rikenella*, así como *Clostridium* y gamma-Proteobacteria y otras especies patógenas y oportunistas. Estos últimos grupos bacterianos se han asociado a la EEC desde hace más de 40 años (Sinkovics, 1976). Aunque estudios previos describían ausencia de procesos inflamatorios en EEC, también estudiamos la expresión génica en la mucosa del ciego y del apéndice de estas muestras, observando un alto nivel de expresión de citoquinas pro-inflamatorias en las muestras de EEC. Sin embargo, aunque las gamma-Proteobacteria en general se asocian a perfiles inflamatorios como el observado, no se pudo hallar correlación estadística con ninguna especie bacteriana.

En este trabajo, hemos utilizado filtrados de contenido cecal de conejos enfermos para poner a punto métodos basados en cultivo de tejidos y de células epiteliales intestinales para la posible selección de bacterias. Además se han comparado las poblaciones cecales de bacterias de conejos sanos, susceptibles de adquirir la enfermedad, con conejos silvestres y se han identificado grupos bacterianos específicos de estos últimos.

Material y métodos

Muestras, animales y tratamiento con antibióticos

Las muestras de ciego de conejos alimentados con pienso con y sin antibióticos (lincomicina 29 ppm, espectinomicina 29 ppm, tiamutina 40 ppm, neomicina 121 ppm) (Nanta, Nutreco España) y con EEC provienen de un trabajo previo (Bäuerl et al., 2014), realizado en el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), y se han mantenido congeladas a -80°C. En total, se analizaron de esta primera granja UPV: 10 animales tratados con antibióticos, 10 sin antibióticos sanos (Control) y 10 sin antibióticos con EEC. Nuevas muestras de conejos de granja sin antibióticos y con muy baja incidencia de EEC han sido suministradas por y provienen de la granja experimental de Toledo (Nanta, Nutreco, España). La lactación duró 35 días y se separaron en jaulas de 10 animales. De esta segunda granja se estudió el contenido cecal de 5 animales en el día 35 y 5 en el día 80. Tras el destete se les administró pienso comercial *ad libitum* (Nanta, Nutreco, España). Los animales se han sacrificado por dislocación cervical. Las 5 muestras de animales salvajes fueron suministradas por cazadores locales anónimos. En todos los casos el ciego se ligó y extrajo rápidamente tras el sacrificio y se congeló inmediatamente o se mantuvo en hielo hasta su llegada al laboratorio.

Este estudio se ha realizado de acuerdo con las normas españolas que regulan el uso de animales de experimentación y otros propósitos (RD 223/1988, RD 1201/2005 y RD 53/2013). El protocolo ha sido aprobado por el comité de Ética de la UPV y del CSIC.

Extracción, secuenciación y métodos de trabajo con ácidos nucleicos

La extracción de DNA y de RNA de la mucosa, cultivos de órganos, células epiteliales humanas y cecum se realizó con el kit Qiagen Stool DNA extraction (QIAgen, Hilden, Alemania), tal como se describe en nuestro trabajo previo (Bäuerl et al., 2014). La estimación de expresión génica se realizó mediante PCR a tiempo real mediante SYBR® Green PCR Master Mix (Roche) en un equipo LightCycler® 480 Real-Time PCR System (Roche), tal como

se describió anteriormente (Bäuerl *et al.*, 2014). El análisis estadístico se realizó con el paquete IBM-SPSS 19.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Se amplificó el fragmento de 500 nt que incluye las regiones V1-V3 del gen ribosomal 16S y se secuenció en un equipo de secuenciación masiva Genome Sequencer FLX Titanium Series (454 Life Science, Branford, USA). Las secuencias se alinearon con la base de datos SILVA y se realizó el análisis estadístico y bioinformático con los programas STAMP, QIIME y UniFrac, según se describió anteriormente (Bäuerl *et al.*, 2014). La comparación de nuevas secuencias de animales salvajes y de la granja sin tratamiento con antibióticos se realizó con programación en R (Cabrera Rubio *et al.*, 2017).

Preparación de los filtrados de contenido cecal y ensayo sobre explantes de intestino de conejo y cultivos celulares humanos

Los filtrados de contenido cecal se realizaron como se describe por Licois *et al.* (2005). Se recoge el intestino de la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia a primera hora de la mañana, realizamos biopsia de animales sanos y extracción del intestino delgado (ID), se puso en hielo en medio DMEM. En el laboratorio las secciones de ID se lavan con PBS estéril y se cortan en fragmentos cuadrados de unos 5 mm de lado con bisturí estéril y en cabina de flujo laminar. A continuación se colocan directamente en placas transwell de 12 pocillos con 900 µl de medio DMEM (**Figura 1**). Sobre las muestras se añade 100 µl de filtrado de contenido cecal y se incuban durante 4 horas y 45 minutos. Terminado el tiempo de incubación se colocan en TRIZOL y se procede a la extracción de RNA. Más detalles del protocolo experimental se detallan en un trabajo previo (Bäuerl *et al.*, 2013).

La línea de células epiteliales humanas utilizada fue HT-29, que se mantuvo en DMEM High glucose con 10% FBS, 1 mM piruvato sódico y antibióticos y se incuban en cámara con atmósfera humidificada y 5% CO₂. Las células se inocularon con una concentración de 75.000 células/cm² en placas de 12 o 24 pocillos hasta alcanzar 90-100 % de confluencia. Se lavaron las células y añadieron los filtrados de ciego, y se incubó 3 horas. A continuación se lavan una vez con PBS y se recogen con TRIZOL. El resto del procedimiento se ha descrito arriba y/o se publicará en breve (Bäuerl *et al.*, 2017).

Resultados y discusión

Como se ha mencionado, el uso de filtrados de contenido cecal (TEC1-4) (Huybens *et al.*, 2009; Licois *et al.*, 2005) ha sido históricamente clave para el estudio de los posibles causantes de esta enfermedad. En un trabajo previo describimos que los animales que sufren EEC muestran una acusada reacción inflamatoria en la mucosa cecal (marcadores como IL-8, IFN γ y TNF α) (Bäuerl *et al.*, 2014). Se han desarrollado diferentes métodos *in vitro* para examinar la respuesta de filtrados cecales (de conejos sanos y EEC) que han permitido diferenciar los extractos procedentes de EEC porque inducen una acusada expresión génica de marcadores pro-inflamatorios (**Figura 1**).

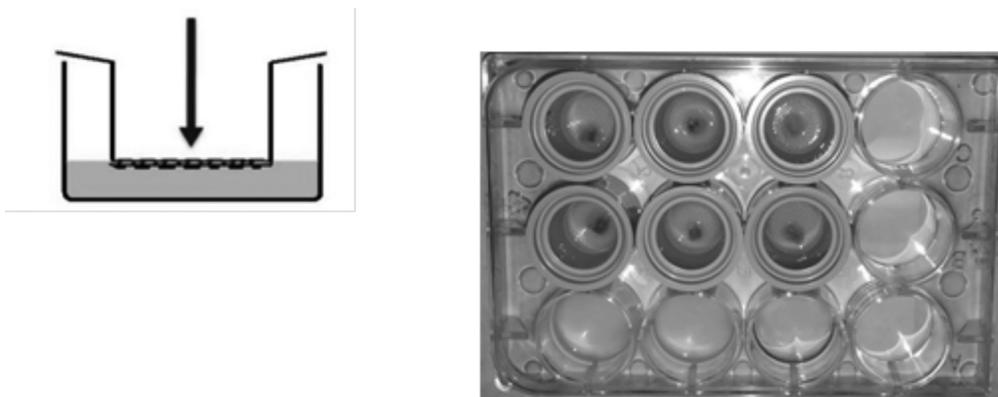


Figura 1. Disposición de los fragmentos de intestino delgado y ciego en placas multipocillo para los ensayos de cultivo de explantes de intestino.

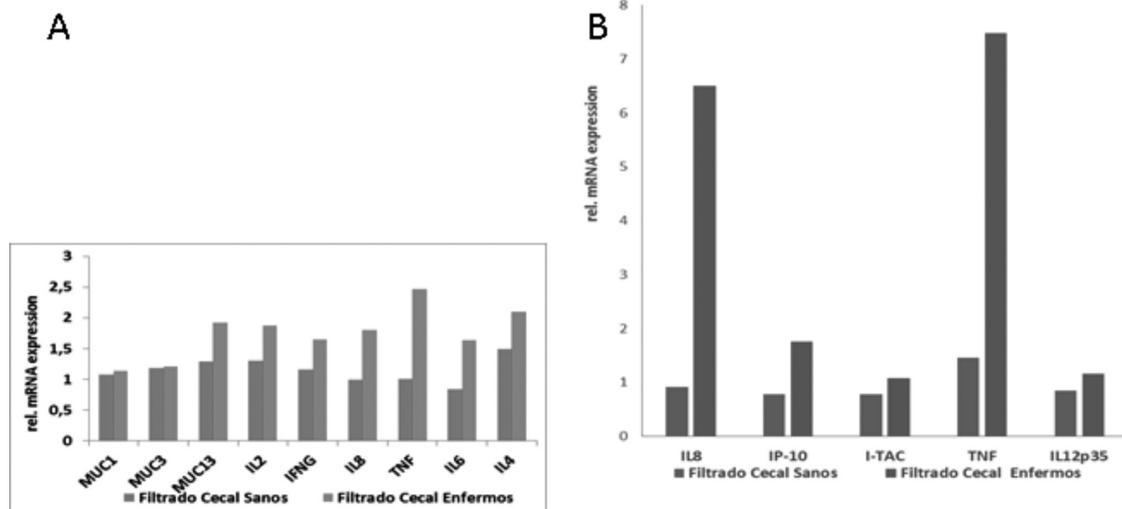


Figura 2. Inducción de expresión génica en fragmentos de ID con placas de peyer (Gráfica A) y en células epiteliales intestinales humanas (Gráfica B) por filtrados de contenido cecal de conejos sanos (barras de la izquierda) y enfermos de EEC (barras de la derecha).

Con filtrados de ciego de animales enfermos y sanos, en el laboratorio de cultivos celulares hemos ensayado la expresión génica de explantes de mucosa cecal, de explantes de ID y de placas de peyer de ID, obtenidos de conejos sanos. En todos los casos se observó una acusada inducción de mRNA de genes pro-inflamatorios, en particular de TNF α , pero también en algunos casos de IFN γ y IL-8 (Figura 2A). Dado que la obtención de fragmentos de intestino lleva un proceso largo y que la variabilidad entre individuos es grande, se ensayó también el uso de líneas celulares intestinales humanas, como HT-29. Los resultados de expresión génica de marcadores de la ruta inflamatoria TNF α -NF-KB fueron muy significativos (Figura 2B). Ello significa que posiblemente en el filtrado de ciego de animales enfermos hay componentes bacterianos pro-inflamatorios muy potentes, posiblemente LPS (toxina termoestable), flagelina de coliformes, o bien, componentes de la pared y toxinas de clostridios. Aunque este trabajo está ahora en curso y se necesitan realizar numerosas pruebas complementarias, diferentes aislados de bacterias anaerobias aisladas de dichos filtrados, posiblemente sean bacterias del género *Clostridium*, poseen una potente actividad pro-inflamatoria (datos no publicados).

La administración de antibióticos constituye la práctica más eficaz para el tratamiento de enteropatía epizootica del conejo (EEC), sin embargo, el uso de antibióticos debe limitarse progresivamente porque tiene consecuencias imprevisibles, como las que se desprenden de este trabajo. Aquí compararemos los patrones de las bacterias del ciego de conejos silvestres, con los de una granja libre de antibióticos y libre de EEC y también con animales de una granja históricamente tratada con antibióticos donde estudiaron animales sanos y enfermos de EEC. Resulta bastante llamativo que los animales de la granja con antibióticos posean mayor diversidad que los silvestres y la granja sin antibióticos (y sin casos de EEC) (Figura 3).

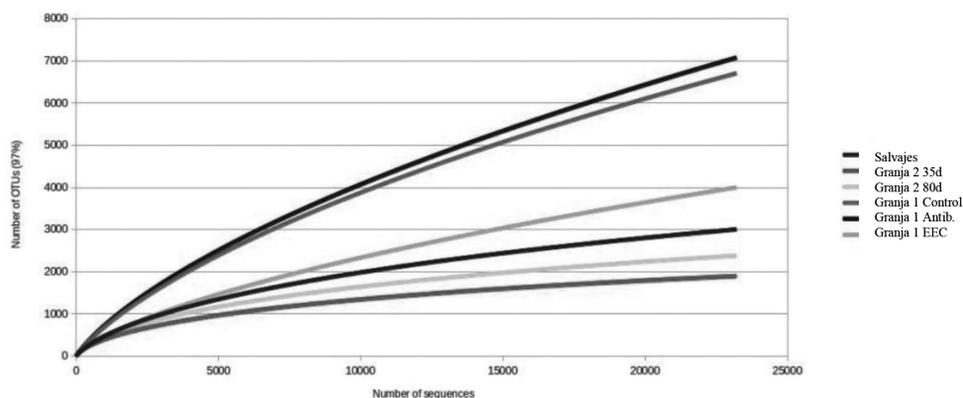


Figura 3. Curvas de rarefacción (diversidad beta).

Los animales alimentados con pienso medicado y los que no lo fueron, pero que estaban en la misma granja, poseen microbiota cecal muy similar. La microbiota de los conejos de la granja sin antibióticos, que tampoco tiene casos de EEC, se parece más a la de animales silvestres que a la tratada con antibióticos (**Figura 4**), en ella son abundantes las familias bacterianas Bacteroidaceae, Ruminococcaceae y Lachnospiraceae. Se podría sugerir que, aunque la EEC se considera una enfermedad multifactorial, el uso frecuente de antimicrobianos podría generar un importante sesgo en las poblaciones bacterianas del ciego, y posiblemente también en el ambiente microbiológico de la granja, dando lugar a una comunidad más susceptible a EEC. Sin embargo, ninguno de los tests estadísticos aplicados nos ha indicado cuál podría ser el oportunista o patógeno asociado a la disbiosis observada en muestras con EEC. Como hipótesis atractiva para futuros estudios, podemos proponer a partir de nuestros datos que los conejos criados en un entorno con antibióticos carecen de bacterias que los protegen de la EEC.

Como conclusión se puede afirmar que las metodologías utilizadas ofrecen una nueva perspectiva de cuál puede ser el escenario que favorece la aparición de la EEC, y también posibles nuevas soluciones, como la recolonización con especies microbianas beneficiosas.

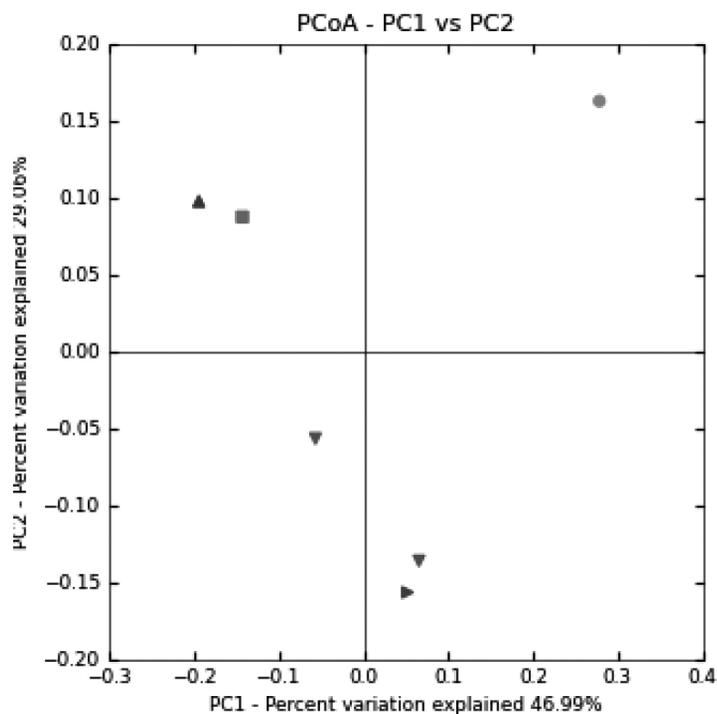


Figura 4. Análisis de componentes principales de las muestras de conejos agrupadas de la granja 1, en la que se administraban antibióticos y con incidencia de EEC (▲ tratados con antibióticos, ■ sanos sin antibióticos (control), ● sin antibióticos enfermos EEC), ▼ granja 2 sin antibióticos y sin EEC y ▶ conejos salvajes.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo, consejo y muestras de Enrique Blas, del Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, a Manuel Marco Laguna de Nutreco España, la aportación de muestras y agradecen la financiación de los proyectos del Plan Nacional AGL2013-47420-R y AGL2015-70487-P.

Bibliografía

Bäuerl C., Collado M.C., Zúñiga M., Blas E., Pérez Martínez, G. 2014. Changes in cecal microbiota and mucosal gene expression revealed new aspects of epizootic Rabbit Enteropathy. *PLoS One*, 9: e105707.

- Bäuerl C., Llopis M., Antolín M., Monedero V., Mata M., Zúñiga M., Guarner F., Pérez Martínez G. 2013. *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus plantarum* strains downregulate proinflammatory genes in an ex vivo system of cultured human colonic mucosa. *Genes & Nutrition*, 8: 165-180.
- Bäuerl C., Valero Peñarrocha A., Pérez Martínez G. 2017. *In vitro* and *ex vivo* rationale for the selection of candidate causative agents of Epizootic Rabbit Enteropathy showed protein-bound inflammatory stimulus. *En preparación*.
- Cabrera Rubio R., Collado M.C., Bäuerl C., Pérez Martínez G. 2017. Differences in the cecal microbiota of rabbits from farms with and without antibiotics and wild rabbits. *En preparación*.
- Combes S., Michelland R.J., Monteils V., Cauquil L., Soulié V., Tran N.U., Gidenne T., Fortun-Lamothe L. 2011. Postnatal development of the rabbit caecal microbiota composition and activity. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 77: 680-689.
- Huybens N., Houeix J., Licois D., Mainil J., Marlier D. 2009. Inoculation and bacterial analyses of fractions obtained from the reference inoculum TEC4 which experimentally reproduces epizootic rabbit enteropathy. *World Rabbit Sci.*, 17: 185-193.
- Huybens N., Houeix J., Licois D., Mainil J., Marlier D. 2013. Pyrosequencing of epizootic rabbit enteropathy inocula and rabbit caecal samples. *The Veterinary Journal*, 196: 109-110.
- Kruiningen H.J.v., Williams, C.B. 1972. Mucoïd enteritis of rabbits: Comparison to cholera and cystic fibrosis (with color plate II). *Veterinary Pathology*, 9: 53-77.
- Lebas F. 2001. Entérocólite : situation en juin 2001. *Cuniculture*, 28: 183.
- Licois D., Wyers M., Coudert P. 2005. Epizootic Rabbit Enteropathy: experimental transmission and clinical characterization. *Vet. Res.*, 36: 601-613.
- Sekirov I., Finlay B.B. 2009. The role of the intestinal microbiota in enteric infection. *The Journal of Physiology*, 587: 4159-4167.
- Sinkovics G. 1976. Intestinal flora studies in rabbit mucoïd enteritis. *Veterinary Record*, 98: 151-152.
- Szalo I.M., Lassence C., Licois D., Coudert P., Poulipoulis A., Vindevogel H., Marlier, D. 2007. Fractionation of the reference inoculum of epizootic rabbit enteropathy in discontinuous sucrose gradient identifies aetiological agents in high density fractions. *The Veterinary Journal*, 173: 652-657.
- Zeng B., Han S., Wang P., Wen B., Jian W., Guo W., Yu Z., Du D., Fu X., Kong F., Yang M., Si X., Zhao J., Li, Y. 2015. The bacterial communities associated with fecal types and body weight of rex rabbits. *Scientific Reports*, 5: 9342.

Tipado capsular de *Pasteurella multocida* mediante PCR en tiempo real y su aplicación directa en muestras clínicas de conejo

Pasteurella multocida capsular typing by qPCR. Direct application in rabbit clinical samples

Arnal J.L.*, Sanz C., Serrano D., Benito A, Chacón G., Fernández A.

EXOPOL Autovacunas y Diagnóstico, Pol. Río Gállego, 50840 San Mateo de Gállego, Zaragoza, España

* Dirección de contacto: jlarnal@exopol.com

Resumen

La pasterelosis, causada por diversas cepas de los serotipos A, D y F de *Pasteurella multocida*, es una de las principales enfermedades bacterianas de las granjas comerciales de conejos en España. Diversas técnicas de PCR convencional han sido descritas para la caracterización capsular de cepas. El objetivo de este trabajo fue desarrollar nuevos ensayos PCR a tiempo real (qPCR) para el tipado capsular de cepas de *P. multocida*. Se ha demostrado que dichos ensayos también son válidos para la detección de los distintos tipos directamente sobre muestras clínicas siendo más convenientes para el diagnóstico por su sensibilidad, especificidad, rapidez y menor costo.

Palabras clave: *Pasteurella multocida*, pasterelosis, serotipo, cápsula, qPCR.

Abstract

Pasteurellosis, caused by *Pasteurella multocida* serotypes A, D and F, is one of the main bacterial diseases on Spanish rabbit commercial farms. So far different conventional PCR techniques have been described for capsular characterization. The aim of this study was to develop novel real time PCR (qPCR) technique assays for *P. multocida* strains capsular typing. Good results have been also obtained by direct application of these assays in rabbit clinical samples. Due to their high sensibility, specificity and lower cost on money and time, they are very convenient to be applied in a diagnostic laboratory.

Keywords: *Pasteurella multocida*, pasteurellosis, serotype, capsule. qPCR.

Introducción

La pasterelosis es una de las enfermedades infecciosas no digestivas más frecuentes en las granjas de conejos, afectando tanto a reproductoras en las que produce septicemias, neumonías, mamitis y metritis principalmente, como a gazapos de cebo a los que afecta sobre todo a nivel respiratorio aunque también produciendo infecciones piogénicas subcutáneas (Rosell, 2000). Diversos estudios han demostrado que de los 5 serotipos de *Pasteurella multocida* descritos (A, B, D, E y F), 3 (A, D y F) están asociados a patología en granjas cunícolas, utilizando diversas técnicas de PCR convencional para el tipado capsular a partir de las cepas aisladas en cultivo (Jaglic et al., 2004; El-Tayeb et al., 2004; Stahel et al., 2009; García-Alvarez et al., 2015).

Sin embargo, el aislamiento, identificación y posterior tipado de cada una de las cepas obtenidas en un conjunto de muestras proveniente de un mismo caso clínico es muy costoso, y tiene el riesgo de detectar únicamente los tipos presentes de forma mayoritaria. El objetivo de este trabajo fue desarrollar nuevos ensayos qPCR para la identificación del tipo capsular de cepas de *P. multocida* y valorar su aplicación directa sobre muestras clínicas para identificar todos los serotipos presentes en un conjunto de dichas muestras.

Material y métodos

Seis ensayos PCR en tiempo real (qPCR) con sonda de hidrólisis fueron desarrollados y validados para este trabajo. Inicialmente se trabajó en un ensayo destinado a la detección de *P. multocida* cuyo gen diana era *kmt1* y que detectaba cualquier tipo capsular a través de una sonda marcada en fluoróforo FAM. En la misma reacción se dispuso un ensayo para la detección de un gen constitucional del conejo a través de una sonda marcada en HEX a modo de control endógeno (Benito *et al.*, 2013).

Para la determinación de los distintos tipos capsulares de *P. multocida*: A, B, D, E y F, se desarrollaron 5 ensayos qPCR adicionales, diseñados para poder trabajar en formato individual marcados en FAM o en versión multiplex utilizando sondas marcadas con distintos fluoróforos: FAM, HEX y CY5.

Para la validación de estos test se utilizó una colección de cepas previamente referenciadas que habían sido aisladas a partir de muestras clínicas de distintos procesos patológicos de conejos (García-Alvarez *et al.*, 2015). Se utilizaron 10 cepas de cada uno de los únicos tipos capsulares encontrados en conejos hasta el momento: A, D y F.

Una vez validados los ensayos, se seleccionaron 20 casos clínicos de patología respiratoria, procedentes de distintas granjas cunícolas, remitidos al laboratorio entre septiembre de 2016 y febrero de 2017, que habían obtenido un resultado positivo a *P. multocida* por qPCR al aplicarlo directamente sobre muestras. En cada caso clínico se analizaron entre 1 y 5 muestras que podían ser pulmones (n=13) o bien hisopados de tejido pulmonar (n=7).

De cada una de las muestras se realizó el cultivo microbiológico mediante siembra en agar sangre Columbia (Oxoid PB5039A) e incubación a 37 °C durante 24 horas, y se identificaron las cepas aisladas mediante pruebas bioquímicas convencionales (Quinn *et al.*, 1994). Las muestras testadas para qPCR fueron analizadas individualmente o en pools de hasta 5, dependiendo del número de muestras enviadas para cada caso, y en todos los casos se realizó la detección molecular de *P. multocida* así como sus tipos capsulares mediante los citados ensayos qPCR.

La detección molecular mediante qPCR de *P. multocida* y todos sus tipos capsulares se realizó directamente sobre las muestras clínicas, y posteriormente además sobre los aislamientos microbiológicos obtenidos en cada una de las muestras. El proceso se inició con la extracción de los ácidos nucleicos mediante un equipo automatizado (LabTurbo 48C Compact System, Taigen, Taiwan) utilizando el kit comercial (LabTurbo LGD 480 mini kit, Taigen, Taiwan) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Para la amplificación se utilizó un termociclador 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems) con un único protocolo térmico para todos los ensayos que consistía en un ciclo de activación de 5 minutos a 95 °C y 42 ciclos de 95 °C 15 segundos y 60 °C 1 minuto. Un oligonucleótido sintético con número conocido de copias se utilizó a modo de control positivo que posibilitaba la cuantificación de cada uno de los ensayos utilizados. El valor Cq establecido como cut-off fue 38, considerando todas aquellas muestras cuyo valor Cq era igual o inferior como positivas.

Resultados y discusión

El panel de cepas utilizado para la validación de los ensayos qPCR obtuvo los siguientes resultados detallados en la **Tabla 1**.

Todas las cepas (n=30) resultan positivas al ensayo de *P. multocida* con un rango de valores Cq comprendido entre 12,5 y 14,9. Se observa además que los ensayos para el tipado capsular obtienen una sensibilidad del 100% y especificidad del 100%. Estas qPCR son capaces de detectar todos los aislamientos propios de su tipo y resultan completamente negativos al analizar cepas de otros tipos capsulares diferentes para el que están diseñadas.

Tabla 1. Resultados de validación de ensayos qPCR para tipado capsular de *P. multocida*.

| Cepa | <i>P. multocida</i> qPCR | | | Tipado qPCR, valor Cq | | | | |
|-------|--------------------------|-----------|------|-----------------------|-----|--------------|-----|--------------|
| | Tipo | RESULTADO | Cq | A | B | D | E | F |
| 77171 | A | Positivo | 14,3 | 13,74 | neg | neg | neg | neg |
| 77002 | A | Positivo | 13,5 | 13,29 | neg | neg | neg | neg |
| 76939 | A | Positivo | 13,2 | 12,95 | neg | neg | neg | neg |
| 76918 | A | Positivo | 12,9 | 12,86 | neg | neg | neg | neg |
| 76736 | A | Positivo | 13,4 | 12,86 | neg | neg | neg | neg |
| 76520 | A | Positivo | 13,6 | 13,63 | neg | neg | neg | neg |
| 76513 | A | Positivo | 13,3 | 13,96 | neg | neg | neg | neg |
| 76505 | A | Positivo | 13,8 | 14,20 | neg | neg | neg | neg |
| 76503 | A | Positivo | 14,1 | 14,37 | neg | neg | neg | neg |
| 76326 | A | Positivo | 13,3 | 13,63 | neg | neg | neg | neg |
| 76131 | D | Positivo | 12,7 | neg | neg | 12,59 | neg | neg |
| 76037 | D | Positivo | 13,9 | neg | neg | 13,89 | neg | neg |
| 76016 | D | Positivo | 12,5 | neg | neg | 12,34 | neg | neg |
| 75366 | D | Positivo | 12,8 | neg | neg | 12,87 | neg | neg |
| 75260 | D | Positivo | 13,3 | neg | neg | 13,34 | neg | neg |
| 75189 | D | Positivo | 13,0 | neg | neg | 13,11 | neg | neg |
| 75119 | D | Positivo | 13,8 | neg | neg | 14,37 | neg | neg |
| 75039 | D | Positivo | 13,3 | neg | neg | 13,96 | neg | neg |
| 75011 | D | Positivo | 14,0 | neg | neg | 14,93 | neg | neg |
| 74532 | D | Positivo | 13,4 | neg | neg | 14,51 | neg | neg |
| 76154 | F | Positivo | 12,6 | neg | neg | neg | neg | 12,59 |
| 73827 | F | Positivo | 12,6 | neg | neg | neg | neg | 13,89 |
| 73811 | F | Positivo | 13,8 | neg | neg | neg | neg | 12,40 |
| 73688 | F | Positivo | 13,6 | neg | neg | neg | neg | 12,87 |
| 72896 | F | Positivo | 14,5 | neg | neg | neg | neg | 13,35 |
| 71955 | F | Positivo | 13,7 | neg | neg | neg | neg | 13,11 |
| 71948 | F | Positivo | 14,1 | neg | neg | neg | neg | 14,95 |
| 71471 | F | Positivo | 14,6 | neg | neg | neg | neg | 15,34 |
| 71375 | F | Positivo | 14,5 | neg | neg | neg | neg | 15,01 |
| 71161 | F | Positivo | 14,9 | neg | neg | neg | neg | 15,59 |

Al comparar los valores Cq resultantes de cada cepa para el ensayo de *P. multocida* y el respectivo tipo capsular (A, D o F) observamos que el mayor incremento registrado es de 1,4, un valor relativamente bajo. Este hecho podría ser debido a una notable homogeneidad en la eficiencia de todos los ensayos; característica que resultará útil para una posterior interpretación de los valores Cq cuando se aplica la técnica directamente sobre las muestras clínicas.

Al analizar la colección de 20 casos clínicos mediante qPCR directa sobre muestras se encontró únicamente 4 casos en los que sólo se detecta un tipo capsular. Vale la pena resaltar la alta heterogeneidad de tipos capsulares de *P. multocida*, ya que en el 80% de los casos se detecta más de 1 tipo y en el 25% se detectan los 3 tipos A, D y F (Tabla 2). Tras haber investigado los 5 tipos capsulares, en ninguno de los casos el tipo B ni E fueron detec-

Tabla 2. Heterogeneidad del tipo capsular encontrado en muestras clínicas por qPCR.

| | nº casos | % |
|--------------------|----------|----|
| 1 tipo capsular | 4 | 20 |
| 2 tipos capsulares | 11 | 55 |
| 3 tipos capsulares | 5 | 25 |

tados. Parece que, como se ha descrito anteriormente, los tipos A, D y F son los únicos presentes en la especie cunícola (Jaglic et al., 2004; El-Tayeb et al., 2004; Stahel et al., 2009; García-Alvarez et al., 2015).

El tipo capsular más frecuente fue el A, detectado en el 95% de los casos, mientras que los tipos D y F se detectaron en el 50% y 65% de los casos respectivamente (Tabla 3), lo que está en consonancia con las proporciones obtenidas por García-Alvarez et al. (2015), que encontró unas proporciones del 47%, 28% y 25% para A, D y F respectivamente, al analizar cepas aisladas de casos clínicos de conejos en la Península Ibérica.

Tabla 3. Prevalencia de cada tipo capsular mediante qPCR directa sobre muestras clínicas.

| | nº casos | % | Rango valores | Cq |
|--------|----------|----|---------------|-------|
| Tipo A | 19 | 95 | 17,33 | 36,94 |
| Tipo D | 10 | 50 | 15,84 | 35,24 |
| Tipo F | 13 | 65 | 16,78 | 37,81 |

En los 20 casos clínicos se aisló *P. multocida* en al menos una muestra. Mediante el tipado capsular de cada uno de los aislamientos obtenidos se detectó la presencia de más de un tipo únicamente en el 30% de los casos (Tabla 4), un porcentaje mucho más bajo que cuando se analizó por qPCR directamente sobre muestra clínica (30% vs 80%). La disparidad de resultados es entendible dado que la técnica qPCR presenta una sensibilidad mayor que el cultivo microbiológico, detectando cepas presentes de forma minoritaria que no pueden ser aisladas si se encuentran en muy baja proporción respecto al total de bacterias presentes en la muestra. Los altos valores Cq, inversamente proporcionales a la cantidad de bacteria presente en la muestra, obtenidos en algunos casos para determinados tipos capsulares confirman este hecho.

Tabla 4. Prevalencia de cada tipo capsular mediante qPCR sobre aislamiento.

| | nº casos | % |
|----------|----------|----|
| Tipo A | 9 | 45 |
| Tipo D | 3 | 15 |
| Tipo F | 2 | 10 |
| Tipo A+D | 2 | 10 |
| Tipo A+F | 4 | 20 |

En ninguno de los 20 casos analizados se identificó un aislamiento con un determinado tipo capsular que no hubiera sido previamente detectado mediante qPCR directa sobre la muestra. Al comparar el valor Cq obtenido por el ensayo de *P. multocida* y los distintos tipos capsulares vemos que, en la mayoría de los casos, el cultivo microbiológico únicamente es capaz de aislar aquellos tipos que tienen un valor Cq similar al valor Cq obtenido mediante el ensayo de *P. multocida*.

Gracias a la capacidad cuantificadora de la técnica podemos interpretar cuáles son los tipos más abundantes en la muestra y así prever cuál tendrá mayor probabilidad de ser aislado. La mayor sensibilidad de la metodología propuesta permite la detección de tipos capsulares que por el método de cultivo tradicional hubieran sido ignorados. Sin lugar a dudas, la mera detección de un tipo capsular no sugiere su implicación directa en el proceso patológico. No obstante este tipo de información puede ser valiosa para una mejor aproximación al diagnóstico de la enfermedad y el diseño más preciso de autovacunas para su prevención.

Conclusión

Mediante el presente trabajo quedan validados los ensayos qPCR tanto para el tipado capsular de aislamientos de *P. multocida* así como para la detección de los diferentes tipos capsulares en un análisis directo sobre la

muestra. Los resultados obtenidos demuestran que en un porcentaje considerable de casos clínicos de pastere-
losis hay más de un tipo capsular implicado.

Bibliografía

Benito A., Arnal J.L., De Tomas E., Serrano D., Villa A. 2013. Internal controls for reliable results in real-time PCR diagnostic assays. WAVLD 2013 Congress. Berlin.

El-Tayeb A.B., Morishita T.Y., Angrick E.J. 2004. Evaluation of *Pasteurella multocida* isolated from rabbits by capsular typing, somatic serotyping, and restriction endonuclease analysis. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 16: 121-125.

García-Alvarez A., Chaves F., Fernández A., Sanz C., Borobia M., Cid D. 2015. An ST11 clone of *Pasteurella multocida*, widely spread among farmed rabbits in the Iberian Peninsula, demonstrates respiratory niche association. *Infect. Genet. Evol.*, 34: 81-87.

Jaglic Z., Kucerova Z., Nedbalcova K., Hlozek P., Bartos M. 2004. Identification of *Pasteurella multocida* Serogroup F isolates in rabbits. *J. Vet. Med. B.*, 51: 467-469.

Quinn P.J., Carter M.E., Markey B., Carter G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited. London, England.

Rosell J.M. 2000. Capítulo nº 17. Pasteurellosis. En: Rosell J.M. (ed). *Enfermedades del conejo*. Vol II. Mundi-Prensa, Madrid, pp. 71-122.

Stahel A.B., Hoop R.K., Kuhnert P., Korczak B.M. 2009. Phenotypic and genetic characterization of *Pasteurella multocida* and related isolates from rabbits in Switzerland. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 21: 793-802.

Detección y aislamiento de virus de la enfermedad hemorrágica del conejo RHDV2/b en micromamíferos silvestres en el Norte de España

Detection and isolation of rabbit haemorrhagic disease virus RHDV2/b in wild micromammals in Northern Spain

Mendoza M.¹, Calvete C.^{1*}, Sarto M.P.¹, Jiménez de Bagüés M.P.¹, Luján Ll.³, Molín J.³, Calvo A.J.², Monroy F.², Calvo J.H.^{1,4}

¹ Dept. Sanidad y Producción Animal, Centro de Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza, España

² Gerencia de Sanidad, Seguridad Alimentaria y Salud Pública de TRAGSATEC, C/ Julián Camarillo 6, 28037 Madrid, España

³ Departamento de Patología Animal, Universidad de Zaragoza, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50013 Zaragoza, España

⁴ ARAID, 50004 Zaragoza, España

*Dirección de contacto: ccalvete@aragon.es

Resumen

El presente trabajo explora la existencia de infección natural por RHDV2/b en micromamíferos simpátricos del conejo silvestre. Durante el período comprendido entre 2014 y 2016 se monitorizaron varias poblaciones de conejo de monte en semilibertad donde se hallaron cuatro cadáveres de micromamíferos muertos por causas naturales. Mediante un protocolo de PCR dúplex en tiempo real, se intentó determinar la presencia del virus RHDV2/b en los animales muestreados. En total se encontraron, dos topillos mediterráneos (*Microtus duodecimcostatus*) y dos musarañas grises (*Crocidura russula*), resultando un topillo y ambas musarañas positivos a RHDV2/b. Para comprobar la infectividad de las muestras, se inoculó a un lote de conejos de laboratorio con homogeneizados procedentes de los hígados de los micromamíferos, muriendo algunos con lesiones compatibles con RHD. El análisis por PCR dúplex en tiempo real de los hígados de los conejos demostró la presencia de virus en los mismos, confirmando su pertenencia al genotipo RHDV2/b mediante secuenciación del gen que codifica para la proteína VP60. Este hallazgo es a nuestro conocimiento el primer aislamiento de RHDV2/b en micromamíferos silvestres y sugiere que la epidemiología de la enfermedad puede ser más complicada de lo que se conoce actualmente. El estudio además pone de manifiesto la necesidad de realizar una correcta desratización en las granjas cunícolas para evitar la posible entrada del virus por esta vía. Deberían realizarse estudios ulteriores para elucidar completamente el rol de los micromamíferos y otras especies animales en la epidemiología de la enfermedad hemorrágica.

Palabras clave: Enfermedad hemorrágica del conejo, RHDV2/b, *Oryctolagus cuniculus*, *Microtus duodecimcostatus*, *Crocidura russula*.

Abstract

Present work explores the natural RHDV2/b infection of wild rabbit-sympatric micromammals. Between 2014 and 2016 several wild rabbit populations kept in semi-freedom enclosures were monitored where four micromammal carcasses were found, dead by natural causes. A duplex real time PCR procedure was used in order to assess the presence of RHDV2/b in all sampled animals. In total, two Mediterranean Pine Voles (*Microtus duodecimcostatus*) and two White-toothed Shrews (*Crocidura russula*) were found. One vole and both shrews resulted positive to RHDV2/b. To assess the infectiousness of the isolates, a batch of laboratory rabbits was inoculated with homogenates obtained from the livers of positive micromammals, where some died showing compatible RHD lesions. The Duplex real time PCR analysis of the livers from the rabbits demonstrated the infection and

nucleotide sequences of *VP60* gene confirmed their genotype as RHDV2/b. This finding is to our knowledge the first report of RHDV2/b in wild micromammals and it suggests that the epidemiology of the disease could be more convoluted than initially understood. The study also manifests the importance of implementing good micromammal pest control programs in rabbitries in order to avoid the possible entrance of the virus in this manner. Further studies are necessary to fully assess the role of micromammals and other animal species in RHD epidemiology.

Keywords: Rabbit haemorrhagic disease, RHDV2/b, *Oryctolagus cuniculus*, *Microtus duodecimcostatus*, *Crocidura russula*.

Introducción

La enfermedad hemorrágica del conejo (RHD) está causada por un calicivirus del género *Lagovirus* que afecta gravemente al conejo Europeo (*Oryctolagus cuniculus*) y todas sus variedades domésticas. Actualmente es una enfermedad muy importante debido a las altas pérdidas económicas que supone para la cunicultura (Abrantes *et al.*, 2012). Además es uno de los principales factores que afectan a la recuperación de las poblaciones de conejo silvestre en su área de distribución original, que es la península Ibérica y donde es una especie clave para el mantenimiento de los ecosistemas y depredadores emblemáticos como el lince ibérico (*Lynx pardinus*) y el águila imperial ibérica (*Aquila adalberti*) (Delibes-Mateos *et al.*, 2008).

Por otro lado, a partir de 2010 tras el estudio de unos brotes de RHD en Francia, se detectó un nuevo virus relacionado con el RHDV (Le Gall-Reculé *et al.*, 2011). Este nuevo virus, bautizado como RHDVb (Dalton *et al.*, 2012) o RHDV2 (Le Gall-Reculé *et al.*, 2013), en adelante RHDV2/b, es filogenéticamente distinto a otros lagovirus, presentando un perfil antigénico propio y, además, parece tener una mortalidad media menor que los virus clásicos y, al contrario de éstos, puede inducir mortalidad en gazapos muy jóvenes (Dalton *et al.*, 2012; Le Gall-Reculé *et al.*, 2013).

El RHDV2/b se ha extendido rápidamente por toda Europa occidental, sustituyendo a las cepas clásicas en Francia y la península Ibérica (Le Gall-Reculé *et al.*, 2013; Calvete *et al.*, 2014; Dalton *et al.*, 2014; Lopes *et al.*, 2015) presentándose como una nueva amenaza tanto para la cunicultura como para las poblaciones silvestres. En poco tiempo se ha observado la capacidad del RDHV2/b para infectar varias especies de lepóridos, entre ellos la liebre sarda (*Lepus capensis mediterraneus*) (Puggioni *et al.*, 2013), la liebre europea (*Lepus europaeus*) (Camarda *et al.*, 2014) la liebre de Córcega (*Lepus corsicanus*) (Le-Gall Reculé *et al.*, 2016; Velarde *et al.*, 2016) y recientemente, la liebre variable (*Lepus timidus*) (OIE, 2017), causándoles una enfermedad similar a la RHD. Estos hallazgos, unidos a los realizados por Merchán *et al.* (2011) que aislaron RNA vírico de RDHV clásico en especímenes de ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*) y ratón moruno (*Mus spretus*) simpátricos del conejo silvestre, y Rocha *et al.* (2017) con la posterior comprobación experimental de la infección desde el conejo a estos micromamíferos, sugieren que los virus causantes de la RHD tienen un amplio rango de hospedadores susceptibles, lo que incrementaría en gran medida la complejidad epidemiológica de la enfermedad.

Ampliando el espectro de hospedadores aún más, nuestro trabajo presenta la detección y aislamiento de RDHV2/b en el hígado de dos especies diferentes de micromamíferos, lo que constituye el primer hallazgo de RDHV2/b en especies no pertenecientes al orden *Lagomorpha* además del primer aislamiento de lagovirus infectantes no procedentes de lagomorfos.

Material y métodos

Se hallaron cuatro cadáveres de micromamíferos durante el seguimiento rutinario de cuatro poblaciones de conejo silvestre en semilibertad localizadas en la finca experimental que el CITA tiene en la provincia de Zaragoza. El seguimiento de las poblaciones, realizado entre 2014-2016, estuvo englobado en el marco de ejecución de un proyecto de investigación sobre la epidemiología de RHD en dichas poblaciones. Se encontraron dos ejemplares de topillo mediterráneo (*Microtus duodecimcostatus*) denominados Md-Sep14-P3 y Md-Nov14-P3, y dos individuos de musaraña gris (*Crocidura russula*) denominados Cr-Feb15-P1 y Cr-Jun15-P4. Tras la recogida, se realizó la necropsia de los animales en las instalaciones del CITA, para identificar la especie y extraer el hígado, almacenándolo a -20°C para su posterior análisis mediante PCR dúplex en tiempo real (qPCR-dúplex).

El procedimiento de qPCR-dúplex se ha desarrollado y puesto a punto durante el presente proyecto de investigación con el fin de facilitar la detección simultánea de virus RHDV clásico o RHDV2/b en un mismo ensayo.

La extracción del ARN vírico se realizó utilizando el reactivo TRI Reagent (SIGMA, Life Science) siguiendo las recomendaciones del fabricante. La síntesis de ADNc mediante la retrotranscripción del ARN se llevó a cabo usando el kit SuperScript III reverse transcriptase (Invitrogen) conforme a las instrucciones del fabricante. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Posteriormente, a partir de cada espécimen de micromamífero se preparó un homogeneizado de 0,2 g de tejido hepático en 1 ml de PBS estéril. Esta suspensión fue centrifugada y el sobrenadante obtenido, una vez filtrado (tamaño de poro: 0,22 μm), se utilizó para la realización de infecciones experimentales en conejos de laboratorio.

En total, se inocularon ocho conejos de la raza Blanco de Nueva Zelanda de 12 semanas de edad (Granja San Bernardo, Tulebras, España), no vacunados frente a RHD y procedentes de progenitores no vacunados. La ausencia de anticuerpos anti RHD fue confirmada mediante ELISA indirecto comercial (Ingezim RHDV ref.17.RHD.K1, Laboratorios INGENASA, Madrid, España). Con cada suspensión procedente de la muestra de micromamífero se inoculó simultáneamente a dos conejos, a razón de 0,3ml de inóculo por vía intramuscular. Una vez inoculados los animales fueron mantenidos en las instalaciones de bioseguridad del CITA durante todo el ensayo.

Los conejos se monitorizaron para observar cambios clínicos y mortalidad durante tres semanas. A los animales muertos así como a los que se les practicó la eutanasia al finalizar el estudio, se les realizó la necropsia para examinar las lesiones macroscópicas y recoger muestras de hígado, bazo, riñón, timo y duodeno para analizar mediante qPCR-dúplex. Una parte del tejido hepático de los animales muertos se utilizó para apoyar el diagnóstico de muerte por RHD mediante un test ELISA directo comercial (Ingezim RHDV DAS ref.17.RHD.K2, Laboratorios INGENASA, Madrid, España). Un duplicado de todas las muestras se conservó en formol para su examen histopatológico. A los animales supervivientes se les extrajo una muestra de sangre 21 días después de la inoculación, para comprobar la seroconversión utilizando el test ELISA indirecto mencionado anteriormente.

Para la secuenciación completa del gen VP60 se utilizó la PCR convencional. La purificación de los productos obtenidos en la PCR se realizó con el kit Macherey-Nagel-Extract II purification (Macherey-Nagel, Alemania) y fueron secuenciados en una plataforma ABI Prism 3700 (Applied BioSystems, Madrid, España) conforme a las instrucciones del fabricante.

Resultados y discusión

Los resultados de la qPCR-dúplex fueron positivos para los especímenes Md-Nov14-P3, Cr-Feb15-P1 y Cr-Jun15-P4. La media de los valores de Cq fue alta en todos los casos, 36,5, 32,5 y 38 respectivamente, sugiriendo una baja cantidad de partículas víricas.

En la infección experimental, murieron los dos conejos inoculados con la suspensión obtenida de Md-Nov14-P3 a las 64h y 163h post-inoculación respectivamente, y un conejo inoculado con la suspensión de Cr-Jun15-P4 (37h post-inoculación). A la necropsia, los tres ejemplares mostraron lesiones evidentes de cuadro agudo de enfermedad hemorrágica. La causa de muerte por RHD fue confirmada en los tres animales mediante qPCR-dúplex, demostrando la presencia del virus RHDV2/b con unos valores de Cq entre 16 y 20 (indicativos de animales muertos en fase aguda de la enfermedad). El test ELISA directo corroboró la causa de muerte. Las lesiones histopatológicas principales también fueron características de RHD, con hepatitis necrótica aguda por pérdida de hepatocitos como resultado de apoptosis inducida, así como hemorragia y congestión en pulmones, riñones y bazo a causa de una CID masiva. También se registró necrosis tubular en los riñones y depósitos de fibrina en la pulpa roja y apoptosis de los centros germinales del bazo, mientras que en los pulmones las principales lesiones fueron edema, hemorragias intraalveolares y trombosis vascular.

Respecto a los tres conejos supervivientes, no se observaron signos clínicos, lesiones macroscópicas o histopatológicas en ninguno de ellos. Los resultados de la qPCR-dúplex fueron negativos en todas las muestras excepto en el hígado y bazo pertenecientes al conejo superviviente inoculado con suspensión de Cr-Jun15-P4, aunque con Cq medios muy altos (40,5 y 42 respectivamente). Además se detectó la seroconversión a los 21 días post-inoculación en este conejo y otro inoculado con Cr-Feb15-P1.

La secuenciación completa del gen VP60 de los aislados obtenidos de los conejos muertos por RHD confirmó la pertenencia de todos ellos al genotipo RHDV2/b.

En conclusión, el RHDV2/b parece tener un rango mucho más amplio de hospedadores que las cepas clásicas de RHDV, ya que otros autores han demostrado la infección de varias especies de liebres mencionadas anteriormente. Nuestros resultados van más allá, presentando el hallazgo de una infección natural por RHDV2/b de dos especies de roedores, el topillo mediterráneo (*Microtus duodecimcostatus*) y la musaraña gris (*Crocidura russula*) siendo a nuestro conocimiento el primer aislamiento de este virus fuera del orden de los lagomorfos, lo que implica un importante salto en la supuesta barrera de hospedador del virus RHDV2/b. Además se confirma que los virus aislados en los micromamíferos mantienen su capacidad infectante, siendo capaces de producir enfermedad en los conejos. Se están realizando más estudios para elucidar la filogenética de las cepas aisladas en los micromamíferos y los conejos silvestres de nuestras poblaciones.

Estos resultados sugerirían que la epidemiología de la enfermedad hemorrágica podría ser más compleja de lo que se asume en la actualidad, y refuerzan la posibilidad de que el origen del agente etiológico de la RHD, sin determinar todavía en la actualidad, haya sido consecuencia de un salto del virus entre especies, por lo que es necesario seguir invirtiendo en investigación sobre la RHD. Por otro lado, la implicación para la cunicultura pondría de manifiesto la importancia de aplicar protocolos eficaces para mantener las explotaciones libres de micromamíferos, reduciendo las probabilidades de re-introducir o mantener el virus RHDV2/b en ellas tras un brote de enfermedad.

Agradecimientos

Este trabajo se ha desarrollado gracias al convenio de colaboración entre el Centro de Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) y Tecnologías y Servicios Agrarios S.A., S.M.E., M.P. (TRAGSATEC), para la realización de las actividades del proyecto "Aplicación del protocolo de Hiperinmunización frente a la Enfermedad Vírica Hemorrágica (RHD) en poblaciones naturales de Conejo Silvestre (INMUNIZADOS 1316)" y ha sido cofinanciado por el proyecto de investigación E-RTA2014-00009-00-00 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Bibliografía

- Abrantes J., Van Der Loo W., Le Pendu J., Esteves P.J. 2012. Rabbit haemorrhagic disease (RHD) and rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV): a review. *Veterinary Research*, 43: 12.
- Calvete C., Sarto P., Calvo A.J., Monroy F., Calvo J.H. 2014. Could the new rabbit haemorrhagic disease virus variant (RHDVb) be fully replacing classical RHD strains in the Iberian Peninsula? *World Rabbit Science*, 22: 91.
- Camarda A., Pugliese N., Cavadini P., Circella E., Capucci L., Caroli A., Legretto M., Mallia E., Lavazza A. 2014. Detection of the new emerging rabbit haemorrhagic disease type 2 virus (RHDV2) in Sicily from rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) and Italian hare (*Lepus corsicanus*). *Research in Veterinary Science*, 97: 642-645.
- Dalton K.P., Nicieza I., Balseiro A., Muguerza M.A., Rosell J.M., Casais R., Álvarez A.L., Parra F. 2012. Variant rabbit hemorrhagic disease virus in young rabbits, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 18: 2009-2012.
- Dalton K.P., Nicieza I., Abrantes J., Esteves P.J., Parra F. 2014. Spread of new variant RHDV in domestic rabbits on the Iberian Peninsula. *Veterinary Microbiology*, 169: 67-73.
- Delibes-Mateos M., Delibes M., Ferreras P., Villafuerte R. 2008. Key role of European rabbits in the conservation of the Western Mediterranean basin hotspot. *Conservation Biology*, 22: 1106-1117.
- Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Boucher S., Le Normand B., Plassiart G., Portejoie Y., Decors A., Bertagnoli S., Guérin J-L., Marchandeu S. 2011. Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Veterinary Record*, 168: 137-138.
- Le Gall-Reculé G., Lavazza A., Marchandeu S., Bertagnoli S., Zwingelstein F., Cavadini P., Martinelli N., Lombardi G., Guérin J-L., Lemaitre E., Decors, A. Boucher A., Le Normand B., Capucci L. 2013. Emergence of a new lagovirus related to rabbit haemorrhagic disease virus. *Veterinary Research*, 44:81.
- Le Gall-Reculé G., Lemaitre E., Bertagnoli S., Hubert C., Top S., Lequeux T., Decors A., Marchandeu S., Guitton J.S. 2016. Large scale detection of the rabbit haemorrhagic disease virus RHDV2 in European hare (*Lepus europaeus*) populations

in France causing European brown hare syndrome EBHS-like outbreaks. En: 5th World Lagomorph Conference. Turlock CA, EE.UU., p. 67.

Lopes A.M., Correia J., Abrantes J., Melo P., Ramada M., Magalhães M.J., Alves P.C., Esteves P.J. 2015. Is the new variant RHDV replacing genogroup 1 in Portuguese wild rabbit populations? *Viruses*, 7: 27-36.

Merchán T., Rocha G., Alda F., Silva E., Thompson G., Hidalgo de Trucios S., Pagés A. 2011. Detection of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) in nonspecific vertebrate hosts sympatric to the European wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Infection, Genetics and Evolution*, 11: 1469-1474.

Velarde R., Cavadini P., Neimane A., Chiari M., Cabezón O., Lavín S., Gaffuri A., Grilli G., Gavier-Widén D., Lavazza A., Capucci L. 2016. Detection of the new emerging rabbit hemorrhagic disease type 2 virus (RHDV2) in European brown hares (*Lepus europaeus*) from Italy and Spain. En: 5th World Lagomorph Conference. Turlock CA, EE.UU., p. 66.

OIE. Organización Mundial de Sanidad Animal, 2017. Interfaz de la base de datos del sistema mundial de información zoonosaria (WAHID/WAHIS).

http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=22452.

Puggioni G., Cavadini P., Maestrale C., Scivoli R., Botti G., Ligios C., Le Gall-Reculé G., Lavazza A., Capucci L. 2013. The new French 2010 rabbit hemorrhagic disease virus causes an RHD-like disease in the Sardinian Cape hare (*Lepus capensis mediterraneus*). *Veterinary Research*, 44: 96.

Rocha G., Alda F., Pagés A., Merchán T. 2017. Experimental transmission of rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV) from rabbit to wild mice (*Mus spretus* and *Apodemus sylvaticus*) under laboratory conditions. *Infection, Genetics and Evolution* 47: 94-98.

Respuesta inmunitaria del conejo frente a *Staphylococcus aureus*

Immune response of the rabbit to Staphylococcus aureus

Muñoz-Silvestre A.* , Pérez-Fuentes S., Moreno-Grúa E., Corpa J.M., Selva L., Viana D.

Instituto CEU de Ciencias Biomédicas (Grupo de Patología y Sanidad Animal), Facultad de Veterinaria, PASAPTA, Universidad CEU Cardenal Herrera, Tirant lo Blanc 7, 46115 Alfara del Patriarca (Valencia), España

* Dirección de contacto: asuncion.munoz@uchceu.es

Resumen

En el ámbito de la cunicultura comercial *Staphylococcus aureus* es una bacteria con notable interés desde el punto de vista sanitario debido a que afecta a conejos de todas las edades y produce diferentes tipos de lesiones supurativas. En el presente trabajo se plantea estudiar la respuesta inmunitaria local desarrollada en los animales tras la inoculación intradérmica de la cepa más extendida de *S. aureus* aislada en granja: la ST121. El 100% de los animales infectados con la cepa ST121 desarrollaron lesiones. Los resultados de las poblaciones leucocitarias analizadas mediante tinción inmunohistoquímica revelaron un aumento de linfocitos T a partir de las 48 horas post-infección (p.i.), cuyos niveles se mantuvieron elevados hasta los 21 días p.i. El número de células fagocíticas (macrófagos) aumentó a partir de las 72 horas p.i., alcanzando sus valores más elevados a los 7 días p.i., coincidiendo con la apertura y el drenaje de los abscesos. Las células plasmáticas manifestaron un primer aumento a las 48 horas p.i., y un posterior incremento progresivo entre los 7 y 21 días p.i. Estos hallazgos describen la evolución de un absceso intradérmico en un modelo de infección en piel de conejo, estableciendo la interacción entre el sistema inmunitario del hospedador y el agente patógeno, y confirmando la importancia de los mecanismos de defensa innatos del hospedador frente a las infecciones producidas por *S. aureus*.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, absceso, inmunidad innata, infección experimental.

Abstract

Staphylococcus aureus is a bacterium with remarkable interest from a sanitary point of view in commercial rabbitries because it affects rabbits of all ages and produces different types of suppurative lesions. An experimental infection was designed in order to study the local immune response developed in the animals after the intradermal inoculation using the most widespread strain of *S. aureus* (ST121) isolated from farm. One hundred per cent of the animals infected with the strain ST121 developed lesions. The results of the leukocyte populations analyzed by immunohistochemical staining revealed an increase of T lymphocytes after 48 hours post infection (p.i.), whose levels remained elevated up to 21 days after infection. The number of phagocytic cells (macrophages) increased after 72 hours post-infection, reaching their highest values at 7 days p.i., coinciding with the opening and drainage of abscesses. Plasma cells showed a first increase at 48 hours p.i., and a subsequent progressive increase between 7 and 21 days p.i. These findings describe the evolution of an intradermal abscess in a rabbit skin infection model, establishing the interaction between the host immune system and the pathogen, and confirming the importance of innate host defense mechanisms against infections produced by *S. aureus*.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, abscess, innate immunity, experimental infection.

Introducción

Staphylococcus aureus es una de las especies bacterianas considerada de mayor interés sanitario tanto para humanos como para animales. En cunicultura comercial esta bacteria puede afectar a conejos de todas las edades produciendo diferentes lesiones: dermatitis supurativa, mastitis, abscesos multisistémicos o pododermatitis (Segura et al., 2007; Corpa et al., 2009). La cepa de *S. aureus* más extendida en las explotaciones cunícolas pertenece al clon ST121 (Vancraeynest et al., 2006; Viana et al., 2007; Viana et al., 2011).

El éxito de *S. aureus* como patógeno está relacionado con su capacidad de adaptarse a diversos ambientes y de producir una gran variedad de factores de virulencia, que juegan un papel importante en todos los niveles de las interacciones hospedador-patógeno, y permiten a las bacterias eludir la inmunidad innata y adaptativa del hospedador. Cuando las bacterias invaden un tejido son reconocidas por el sistema inmunitario innato, que inicia la cascada de señalización para promover el reclutamiento de células inflamatorias (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) al lugar de la infección y facilitan la formación del absceso. Una característica notable de los abscesos producidos por *S. aureus* es la masiva infiltración de células inmunitarias en respuesta a la destrucción celular y a las señales proinflamatorias, dando lugar a la licuefacción del tejido que finalmente es drenado, momento que se considera un signo clínico de curación de la lesión (Krishna y Miller, 2012; Kobayashi et al., 2015; Malachowa et al., 2015).

La respuesta inmunitaria que manifiestan los conejos frente a las infecciones por *S. aureus* no está del todo descrita. Nuestro grupo de investigación con anterioridad describió la existencia de diferencias en la respuesta inmunitaria producida por las dos cepas aisladas con mayor frecuencia de casos de mastitis naturales (ST121 y ST96) (Guerrero et al., 2015). Por ello, en este estudio se plantea la inducción de una infección experimental en piel con la cepa de *S. aureus* más extendida en las explotaciones cunícolas (ST121), con el objetivo de estudiar la evolución de la respuesta inmunitaria local (estudiando las células tisulares), permitiendo así profundizar en el conocimiento de la patogenia de las estafilococias cunícolas, y comprender mejor los mecanismos de interacción entre el patógeno y el hospedador.

Material y métodos

Cepas y animales empleados

Para llevar a cabo las infecciones experimentales se empleó una cepa de *S. aureus* perteneciente al clon ST121 y se utilizaron 90 conejos (*Oryctolagus cuniculus*) de dos meses de edad.

Infección experimental en piel

El modelo de infección experimental se basó en protocolos de infecciones descritas con anterioridad (Kennedy et al., 2010; Li et al., 2010). La carga bacteriana empleada fue de 300 unidades formadoras de colonias en 100 µL de PBS ("Phosphate Buffer Saline"). En cada conejo se llevaron a cabo dos puntos de inoculación (en la región lumbar, a ambos lados del raquis) intradérmicamente con una aguja hipodérmica (25G). La zona de inoculación fue previamente rasurada.

Examen macroscópico y toma de muestras

Durante 28 días post-inoculación (p.i.) se realizó un seguimiento de la evolución de las lesiones en la piel, anotando sus medidas y la presencia de dermonecrosis. Diez animales fueron sacrificados a las 0 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 7 días, 14 días, 21 días y 28 días p.i., respectivamente. De cada animal se tomó una muestra de tejido lesionado para llevar a cabo estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos.

Estudios histológicos e inmunohistoquímicos

Las muestras de tejido se fijaron en formol tamponado al 10%, y se procesaron de manera rutinaria, tiñéndose mediante las técnicas de hematoxilina-eosina para proceder a su estudio microscópico. Para realizar el estudio de la respuesta inmunitaria celular a nivel local mediante técnicas de inmunohistoquímica se emplearon los anticuerpos recogidos en la **Tabla 1**. El recuento de células positivas se llevó a cabo utilizando el análisis de imagen

Tabla 1. Anticuerpos primarios usados en el estudio.

| Anticuerpos | Células | Compañía |
|-------------------------------|---------------------|-------------|
| Mouse anti-Rabbit Light Chain | Células plasmáticas | Millipore |
| Mouse anti-Human CD79α | Linfocitos B | AbD Serotec |
| Mouse anti-Canine CD3 | Linfocitos T | UC Davis |
| Mouse anti-Rabbit RAM11 | Macrófagos | Dako |

NIS-Elements D 2.30 (Nikon), realizando un recuento de veinte campos a 400X seleccionados aleatoriamente bordeando el área de lesión, representando un área total de 1,6 mm².

Análisis estadístico

Los datos de los recuentos de las poblaciones leucocitarias en los distintos tiempos fueron analizados utilizando la prueba t de Student. Se consideró significativo un valor de P inferior a 0,05.

Resultados y discusión

Tras ser inoculados con la cepa ST121, todos los animales desarrollaron lesiones en la piel localizadas en el punto de inoculación a las 24 horas p.i. Las lesiones de la piel se caracterizaron por presentar pápulas eritematosas de tamaño variable, que a nivel microscópico se correspondieron sobre todo con un incremento del número de células inflamatorias (heterófilos) e hiperemia. A las 48 horas p.i. estas pápulas se incrementaron de tamaño (2,5 cm de diámetro) y a nivel histológico los heterófilos comenzaron a agruparse formando abscesos. A partir de las 72 horas p.i. continuó el incremento de tamaño de los nódulos, llegando al máximo tamaño (3 cm de diámetro), observándose características de maduración en los abscesos, como el incremento de la cápsula fibrosa y el tejido de granulación. La dermonecrosis apareció a partir de las 72 horas p.i., manifestándose en todos los animales a partir del 7º día p.i., con el consiguiente drenaje del contenido purulento y la recuperación progresiva de las lesiones hasta los 28 días p.i., donde a nivel histológico se correspondió con la reepitelización de la zona de la lesión y la disminución progresiva de las células inflamatorias.

Los resultados de la respuesta inmunitaria local obtenidos mediante inmunohistoquímica revelaron que los mayores recuentos correspondieron a los linfocitos T CD3⁺ y células plasmáticas, seguidas de los macrófagos RAM11⁺. Los linfocitos T CD3⁺ se localizaron principalmente de forma difusa en el tejido conjuntivo próximo a las zonas de lesión y manifestaron un aumento significativo (p<0,05) en su número a partir de las 48 horas p.i., manteniéndose elevados hasta los 21 días p.i., tiempo en el que alcanzaron su máximo valor (18,8±10,23 células/mm²), para disminuir de nuevo a los 28 días p.i. (Figura 1). Con respecto a la presencia de células plasmáticas, experimentaron un aumento significativo (p<0,05) en su número a las 48 horas p.i. y otro incremento progresivo a partir del 7º día p.i. que se mantuvo hasta los 21 días p.i., momento en el que alcanzaron su máximo valor (13,9±14,12 células/mm²) (Figura 2). En cuanto al comportamiento de los macrófagos RAM11⁺, localizados alrededor de los focos de necrosis, comenzaron a incrementarse a partir de las 72 horas p.i., coincidiendo con los primeros signos de cronicidad, alcanzando su máximo valor (10,2±3,00 células/mm²), a los 7 días p.i. (Figura 3). Por su parte, las variaciones en el número de linfocitos B CD79⁺ durante los 28 días del periodo experimental no fueron significativas. A los 28 días p.i. todas las células analizadas experimentaron un descenso, sin mostrar diferencias respecto a los controles, coincidiendo con el momento de recuperación de las lesiones.

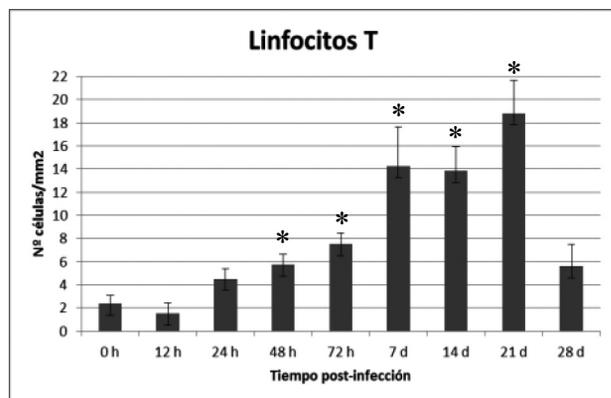


Figura 1. Variación del número de linfocitos T locales. *P<0,05 respecto al día 0.

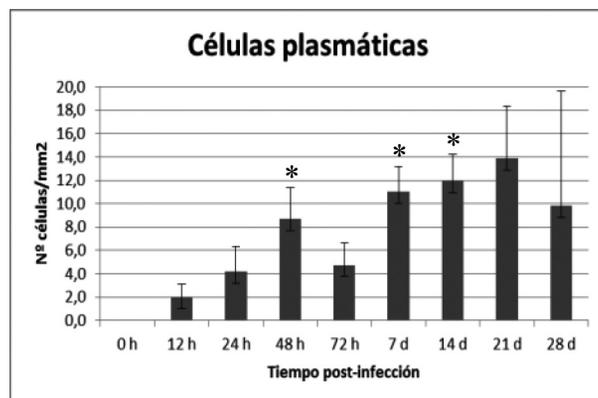


Figura 2. Variación del número de células plasmáticas locales. *P<0,05 respecto al día 0.

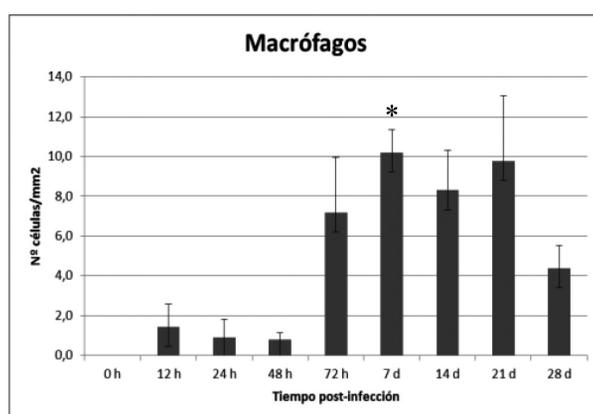


Figura 3. Variación del número de macrófagos locales.
* $P < 0,05$ respecto al día 0.

Los hallazgos histopatológicos tanto a nivel macroscópico como microscópico explican la evolución de las lesiones, guardando relación con resultados previos sobre la respuesta inmunitaria celular periférica (Muñoz-Silvestre *et al.*, 2015). En una fase inicial aguda (12-48 horas p.i.) solo los granulocitos aumentan significativamente ($p < 0,05$), coincidiendo con los primeros signos clínicos de inflamación (eritema), y manifiestan una respuesta crónica mediante otro incremento progresivo en su número a partir del 7º día p.i. hasta los 14 días p.i., periodo que se caracteriza por el inicio de la recuperación de la lesión tras el drenaje del contenido purulento. Por otra parte, coincidiendo con el inicio de la respuesta inflamatoria los monocitos sanguíneos aumentan de manera significativa ($p < 0,05$) a partir del 2º día p.i., siendo este aumento progresivo hasta los 14 días p.i. Este incremento de los monocitos sanguíneos está relacionado con el aumento del número de macrófagos alrededor de los focos de lesión, lo cual sería indicativo de que las lesiones evolucionan hacia la recuperación. En cuanto a los niveles generales de linfocitos sanguíneos, éstos aumentan significativamente ($p < 0,05$) desde las 72 horas p.i. hasta los 14 días p.i., coincidiendo con el aumento del número de linfocitos T en el tejido lesionado en los mismos tiempos.

En este trabajo se ha estudiado la respuesta local del sistema inmunitario del conejo frente a un modelo de infección bacteriana en piel, y al unificar estos resultados con estudio anteriores, se pone de manifiesto que el desarrollo y la evolución de las lesiones en piel producidas por *S. aureus* no sólo se debe a la multiplicación in situ de las bacterias, sino también al incremento del número de leucocitos sanguíneos y a la afluencia de células inflamatorias a partir de las 48-72 h.p.i., demostrando así que la respuesta inmunitaria del hospedador es fundamental frente a las infecciones producidas por *S. aureus*.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado gracias a sendos proyectos de investigación del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2014-53405-C2-2-P) y la Generalitat Valenciana (Grupos de Investigación Emergentes GV/2015/090).

Bibliografía

- Corpa J.M., Hermans K., Haesebrouck F. 2009. Main Pathologies associated with *Staphylococcus aureus* infections in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 1-11.
- Guerrero I., Ferrián S., Penadés M., García-Quirós A., Pascual J.J., Selva L., Viana D., Corpa J.M. 2015. Host responses associated with chronic staphylococcal mastitis in rabbits. *The Veterinary Journal*, 204(3): 338-344.
- Kennedy A.D., Bubeck Wardenburg J., Gardner D.J., Long D., Whitney A.R., Braughton K.R., Schneewind O., DeLeo F.R. 2010. Targeting of alpha-hemolysin by active or passive immunization decreases severity of USA300 skin infection in a mouse model. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(7): 1050-1058.
- Kobayashi S.D., Malachowa N., DeLeo F.R. 2015. Infectious disease theme issue: Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* abscesses. *The American Journal of Pathology*, doi: 10.1016/j.ajpath.2014.11.030.

- Krishna S., Miller L.S. 2012. *Host-pathogen interactions between the skin and Staphylococcus aureus*. *Current Opinion in Microbiology*, 15(1): 28-35.
- Li M., Cheung G.Y., Hu J., Wang D., Joo H.S., DeLeo F.R., Otto M. 2010. *Comparative analysis of virulence and toxin expression of global Community-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus strains*. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(12): 1866-1876.
- Malachowa N., Kobayashi S.D., Sturdevant D.E., Scott D.P., DeLeo F.R. 2015. *Insights into the Staphylococcus aureus-Host interface: Global changes in host and pathogen gene expression in a rabbit skin infection model*. *Plos One*, 10:e0117713.
- Muñoz-Silvestre A., Penadés M., García-Quirós A., Selva L., Viana D., Corpa J.M. 2015. *¿Qué armas inmunológicas presentan los conejos frente a las infecciones por Staphylococcus aureus? En: 40 Symposium de Cunicultura. Santiago de Compostela, pp. 174-177 España.*
- Segura P., Martínez J., Peris B., Selva L., Viana D., Penades J.R., Corpa J.M. 2007. *Staphylococcal infections in rabbit does on two industrial farms*. *Veterinary Record*, 160: 869-872.
- Vancraeynest D., Haesebrouck F., Deplano A., Denis O., Godard C., Wildemauwe C., Hermans K. 2006. *International dissemination of a high virulence rabbit Staphylococcus aureus clone*. *Journal of Veterinary Medicine*, 53(9): 418-422.
- Viana D., Selva L., Callanan J.J., Guerrero I., Ferran S., Corpa J.M. 2011. *Strains of Staphylococcus aureus and pathology associated with chronic suppurative mastitis in rabbits*. *The Veterinary Journal*, 190(3):403-407.
- Viana D., Selva L., Segura P., Penades J.R. Corpa J.M. 2007. *Genotypic characterization of Staphylococcus aureus strains isolated from rabbit lesions*. *Veterinary Microbiology*, 121: 288-298.

Estado actual de las cepas de *Staphylococcus aureus* en granjas cunícolas

Current status of Staphylococcus aureus strains in rabbit farms

Pérez-Fuentes S.* , Muñoz-Silvestre A., Moreno-Grúa E., Viana D., Selva L., Corpa J.M.

Instituto CEU de Ciencias Biomédicas (Grupo de Patología y Sanidad Animal). Facultad de Veterinaria. PASAPTA. Universidad CEU Cardenal Herrera. C/ Tirant lo Blanc, 7. 46115 Alfara del Patriarca (Valencia), España

* Dirección de contacto: sara.perezfuentes@uchceu.es

Resumen

Staphylococcus aureus es una bacteria ampliamente distribuida en cunicultura que provoca sobre todo mastitis, pododermatitis y abscesos en conejos comerciales. El clon más prevalente es el ST121, con genotipo A1 II1 δ, seguido del ST96. Los objetivos de este estudio fueron: (1) caracterizar las cepas de *S. aureus* involucradas en brotes y casos crónicos de estafilococias desde el año 2014 y (2) conocer la distribución geográfica de los distintos clones de *S. aureus* en los últimos años. Para ello se muestrearon 34 granjas, de las cuales se aislaron 124 muestras positivas a *S. aureus*. Se observó que en el 66,7% de las granjas con muestreos en diversos años se mantuvo el mismo genotipo, y que las cepas, aparentemente, no se distribuyeron de forma uniforme. Se ha identificado dos nuevos clones (ST3761 y ST3764) y un nuevo genotipo (B1 I1 λ) no detectados hasta la fecha.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, brote, mutación, distribución geográfica.

Abstract

Staphylococcus aureus is a bacterium widely distributed in rabbitries causing mastitis, pododermatitis and abscesses. The most prevalent clone is ST121, with A1 II1 δ genotype, followed by ST96. The aims of this study were: (1) to characterize strains of *S. aureus* involved in outbreaks and chronic cases since year 2014; (2) to know the geographical distribution of the different *S. aureus* clones in recent years. For this purpose, 34 farms were sampled, from which 124 samples were positive for *S. aureus*. The 66.7% of the farms with samplings in several years maintained the same genotype, and the strains apparently were not homogeneously distributed. Two new clones (ST3761 and ST3764) and a new genotype (B1 I1 λ), not previously detected have been identified.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, outbreak, mutation, geographical distribution.

Introducción

Staphylococcus aureus es una bacteria que afecta a numerosas especies animales y a humanos. Coloniza la piel, uñas y fosas nasales, pero necesita factores predisponentes (inmunosupresión, heridas, otras enfermedades...) para multiplicarse y generar lesiones, generalmente de carácter supurativo (Corpa et al., 2009). Se transmite por contacto directo o mediante secreciones o utensilios.

En cunicultura, *S. aureus*, provoca principalmente mastitis y pododermatitis en hembras reproductoras y pio-dermas en gazapos, aunque también son comunes las otitis y las rinitis (Corpa et al., 2009). También es importante el papel que juegan los portadores nasales asintomáticos. La alta prevalencia de portadores podría aumentar la incidencia de estafilococias en las granjas (Selva et al., 2015).

Existen numerosas cepas de *S. aureus* que pueden caracterizarse mediante diferentes técnicas. La técnica MLST (Multilocus Sequence Typing) es la más utilizada hoy en día. Esta técnica compara 7 genes (*arc*, *aro*, *glp*, *gmk*, *pta*, *tpi* y *yqi*) altamente conservados en la bacteria, asignando el mismo número "ST" a cepas pertenecientes al mismo origen clonal y números diferentes cuando sufren mutaciones y se van distanciando filogenéticamente. También se usa el tipado molecular, basado en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción

(RFLP) de los genes *coa*, *spa* y *clfB*. Con esta técnica se obtiene el genotipo, una combinación de letras latinas, números y letras griegas, como por ejemplo, A1 II1 δ. Estas dos técnicas (MLST y RFLP) se complementan y son necesarias para hacer una óptima identificación de cada cepa de *S. aureus*.

El clon de *S. aureus* más frecuente en cunicultura es el ST121, seguido del clon ST96, con una prevalencia mucho más baja. A su vez, el genotipo más habitual es el A1 II1 δ, que se incluye dentro del clon ST121 (Viana, 2009; Pérez-Fuentes et al., 2016).

En los últimos años, tanto veterinarios como ganaderos han puesto de manifiesto su preocupación por la aparición de brotes de estafilococias especialmente virulentos. Por esta razón, los objetivos de este trabajo fueron: (1) caracterizar las cepas de *S. aureus* involucradas en brotes y casos crónicos de estafilococias desde el año 2014 y (2) conocer la distribución geográfica de los distintos clones de *S. aureus* en los últimos años.

Material y métodos

En este trabajo se han tomado 148 muestras, recogidas entre 2014 y 2017, de 34 granjas que presentaban brotes graves o casos crónicos asociados a infecciones por *Staphylococcus aureus*, situadas en el Norte y Este de España.

Las muestras se tomaron mediante una torunda estéril de diferentes lesiones y de fosas nasales, tanto de animales clínicamente enfermos como sanos. Se sembraron en placas de agar sangre y se incubaron a 37°C durante 24h. Posteriormente se sembraron las colonias compatibles con *S. aureus* en caldo de soja tríptico (TSB) y se incubaron 24h a 37°C con agitación.

Estos cultivos se guardaron en stock a -80°C y también se extrajo el ADN mediante el kit Genelute Bacterial Genomic ADN (SIGMA) siguiendo el protocolo del fabricante, lisando previamente la pared celular mediante 12,5 µg/ml de lisostafina durante una hora a 37°C. Con este ADN se realizaron PCRs de *coa*, *spa* y *clfB* (RFLP) y el tipado por MLST. El tamaño del producto de PCR (5µ de alícuota) se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 2% y los geles se revelaron con ImageQuant™ LAS 4000.

Los productos de PCR de *coa* y *spa* se purificaron con el kit GenElute™ PCR Clean-Up Kit (SIGMA), se digirieron con la enzima HinóI en baño húmedo a 37°C 1,5 horas y se analizaron los resultados por electroforesis en gel de agarosa al 2%. Los geles se revelaron con ImageQuant™ LAS 4000.

Por otra parte, los productos de PCR para el tipado por MLST fueron purificados y secuenciados por el Servicio de Secuenciación del Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP) de la Universitat Politècnica de Valencia. Las secuencias obtenidas se compararon con la base de datos "MLST database" (www.mlst.net).

Resultados y discusión

De las 148 muestras, 124 (83,8%) fueron positivas a *S. aureus*. Se aislaron 21 genotipos diferentes, siendo el más común el A1 II1 δ con 24 aislados (19,35% del total de muestras positivas), y 9 ST diferentes, siendo el clon ST121 el más común, con 36 muestras (29%) (Tablas 1 y 2).

En el 2014 se identificó por primera vez un nuevo clon, el ST3764. Este nuevo clon difiere del ST121 en un nucleótido del gen *gfp*, dando lugar a un nuevo alelo. Hasta la fecha se ha aislado de 19 muestras procedentes de 7 granjas diferentes del norte de España (A Coruña, León y Palencia) (Figura 1). Su genotipo es A1 II1 κ y se ha aislado de lesiones variadas: abscesos, mastitis, pododermatitis y también rinitis, otitis, neumonías y conjuntivitis. En otras zonas geográficas muestreadas este genotipo no posee la mutación y, por lo tanto, sigue correspondiendo al clon ST121. No obstante, hay que señalar que en la zona donde se ha aislado este clon no se tenían muestras previamente al 2014, por tanto no se puede saber si ya estaba presente y aún no se había extendido o, por el contrario, es una mutación reciente de ST121. Por este motivo, se debe confirmar con más muestreos en esa zona geográfica para comprobar si se está extendiendo a otras provincias. Además se aisló otro clon nuevo de 3 muestras en el 2014, el ST3761, que se diferencia del ST121 en el gen *pta*, es decir, hay un cambio de alelo. Según la base de datos MLST, el alelo *pta* de este clon está presente en aislados de mastitis caprina en Italia.

En este estudio también se ha aislado un nuevo genotipo (B1 II1 λ), que presenta una mutación en el gen *clfB* y que pertenece al clon ST96. Se identificó, por primera vez, en el año 2016 y, hasta el momento, sólo se ha detectado

Tabla 1. Relación de genotipos aislados.

| Genotipo | Cepas | Porcentaje |
|--------------|------------|------------|
| A1 II1 δ | 24 | 19,35 |
| A1 II1 κ | 22 | 17,74 |
| B1 I1 α | 10 | 8,06 |
| B1 IV1 α | 8 | 6,45 |
| A1 III1 δ | 7 | 5,65 |
| B1 I1 λ | 5 | 4,03 |
| A1 II1 ε | 4 | 3,23 |
| B1 IV2 α | 4 | 3,23 |
| D2 V1 β | 3 | 2,42 |
| D2 V1 δ | 3 | 2,42 |
| B1 I1 β | 2 | 1,61 |
| B1 I1 κ | 2 | 1,61 |
| B1 II1 α | 2 | 1,61 |
| B3 IV1 γ | 2 | 1,61 |
| C2 V1 θ | 2 | 1,61 |
| A1 II1 β | 1 | 0,81 |
| A1 II1 η | 1 | 0,81 |
| B1 IV2 γ | 1 | 0,81 |
| B3 I1 θ | 1 | 0,81 |
| B3 I1 ι | 1 | 0,81 |
| D2 V1 γ | 1 | 0,81 |
| Desconocido | 18 | 14,52 |
| Total | 124 | 100 |

Tabla 2. Relación de ST aislados.

| MLST | Cepas | Porcentaje |
|--------------|------------|------------|
| 121 | 36 | 29,03 |
| 96 | 32 | 25,81 |
| 3764 | 19 | 15,32 |
| 1 | 10 | 8,06 |
| 3761 | 3 | 2,42 |
| 5 | 2 | 1,61 |
| 146 | 2 | 1,61 |
| 398 | 2 | 1,61 |
| 2855 | 2 | 1,61 |
| Desconocido | 16 | 12,90 |
| Total | 124 | 100 |



Figura 1. Mapa de España con los clones aislados, por provincias, desde 2014 a 2017.

en una granja. Esta cepa se ha relacionado con lesiones atípicas y graves, como pericarditis, metritis y neumonías.

En 10 granjas de las 34 muestreadas (29,4%) se aisló el genotipo más abundante, el A1 II1 δ. Debido al reducido número de muestras en algunas granjas, no puede descartarse que este genotipo no esté presente. No obstante, este resultado es similar al descrito por Viana *et al.* (2007), donde el genotipo A1 II1 δ se aisló en el 20% de las explotaciones.

En 10 de las 15 explotaciones (66,7%) con más de un muestreo, vuelve a aparecer el mismo genotipo con el tiempo. En algunos casos, la misma cepa se mantiene hasta 15 años. Esto concuerda con la persistencia de problemas crónicos de estafilococias en algunas granjas (Adlam *et al.*, 1976). De hecho, en una de las granjas muestreadas, en la que se identificó la cepa A1 II1 δ, se sustituyó la línea cunícola, sin vaciar completamente la nave, y en un muestreo posterior se volvió a aislar el mismo genotipo.

Estos resultados coinciden con estudios previos (Viana *et al.*, 2007) donde se describía que el genotipo más prevalente era el A1 II1 δ, aunque con un porcentaje muy superior (70,76%) a nuestros resultados. Estas diferencias podrían estar relacionadas con la aparición y diseminación del clon ST3764, cuyo genotipo es A1 II1 κ, ya que ha sido aislado a partir del 2014 y el anterior estudio analiza muestras hasta el 2006.

En conclusión, (1) se han aislado dos clones nuevos (ST3761 y ST3764) y un genotipo (B1 II1 λ), que (2) perduran en las granjas a lo largo del tiempo y, (3) aparentemente, el clon ST3764 está localizado únicamente en el noroeste de España y el ST121 por el este, aunque hace falta incrementar la toma de muestras y ampliarla a más provincias para confirmar este dato.

Actualmente estamos investigando la repercusión que estas nuevas cepas pueden tener en cunicultura, mediante el estudio del efecto de las mutaciones detectadas en su virulencia, sobre todo de las cepas ST3764 y B1 II1 λ.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado gracias a sendos proyectos de investigación del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2014-53405-C2-2-P) y la Generalitat Valenciana (Grupos de Investigación Emergentes GV/2015/090). Así mismo, quisiéramos dar las gracias a todos los veterinarios y ganaderos que han colaborado en la toma y remisión de las muestras.

Bibliografía

- Adlam C., Thorley C.M., Ward P.D., Collins M., Lucken R.N., Knight P.A. 1976. Natural and experimental staphylococcal mastitis in rabbits. *Journal of Comparative Pathology*, 86: 581-593.
- Corpa J.M., Hermans K., Haesebrouck F. 2009. Main pathologies associated with *Staphylococcus aureus* in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 115-125.
- Pérez-Fuentes S., Muñoz-Silvestre A., Viana D., Corpa J.M., Selva L. 2016. Importancia del tipado de *Staphylococcus aureus*: origen, virulencia y evolución de las cepas. En: 41 Symposium de Cunicultura. Hondarribia, pp. 117-120 España.
- Selva L., Viana D., Corpa J.M. 2015. *Staphylococcus aureus* nasal carriage could be a risk for development of clinical infections in rabbits. *World Rabbit Science*, 23: 181-184.
- Viana D., Selva L., Segura P., Penadés J.R., Corpa J.M. 2007. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from rabbit lesions. *Veterinary Microbiology*, 121: 288-298.
- Viana D. 2009. Estafilococia en conejos: relación entre genotipos, virulencia y lesiones (Tesis Doctoral). Moncada, Valencia: Universidad CEU Cardenal Herrera. Facultad de Veterinaria.

Evolución de la virulencia de *Staphylococcus aureus* en los últimos 15 años

Evolution of virulence of Staphylococcus aureus in the last 15 years

Moreno-Grúa E.,* Muñoz-Silvestre A., Pérez-Fuentes S., Corpa J.M., Viana D., Selva L.

Instituto CEU de Ciencias Biomédicas (Grupo de Patología y Sanidad Animal). Facultad de Veterinaria. PASAPTA. Universidad CEU Cardenal Herrera. C/ Tirant lo Blanc, 7. 46115 Alfara del Patriarca (Valencia), España.

* Dirección de contacto: elena.moreno3@uch.ceu.es

Resumen

Los clones de *Staphylococcus aureus* más comúnmente aislados de conejos tanto enfermos como sanos son el ST121 y el ST96. Diferentes estudios han evidenciado la escasa capacidad del clon ST96 para provocar infección en el conejo. Sin embargo, en los últimos años, se ha observado un aumento en la prevalencia de los aislados ST96 de lesiones de conejos. El presente trabajo propone la hipótesis de un cambio en la virulencia de los clones ST96 y, para demostrarlo, se realiza un estudio retrospectivo comparando cepas ST96 y ST121 antiguas y recientes. Para comparar la virulencia de ambos clones, se realizan pruebas *in vitro* de cada una de las cepas seleccionadas.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, ST96, virulencia, resistencia a antibióticos.

Abstract

The most commonly isolated *Staphylococcus aureus* clones from diseased and healthy rabbits are ST121 and ST96. Different studies have shown the limited ability of the ST96 clone to cause infection in the rabbit. However, in recent years an increase in the prevalence of ST96 isolates from rabbit lesions has been observed. The present work proposes the hypothesis of a change in virulence of ST96 clones, and to prove this, a retrospective study has been carried out comparing both old and recent ST96 and ST121 strains. To compare the virulence of both clones, it is intended to perform *in vitro* tests of each of the selected strains.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, ST96, virulence, resistance to antibiotics.

Introducción

Staphylococcus aureus es una bacteria ampliamente distribuida que afecta tanto a humanos como animales. En conejos las principales patologías asociadas a esta bacteria son: mastitis, abscesos y pododermatitis (Corpa *et al.*, 2009). Se han desarrollado diferentes técnicas de tipado molecular con el fin de conocer los clones de *S. aureus* predominantes. Uno de los métodos más utilizados es el tipado por MLST (Multilocus Sequence Typing) (Enright *et al.*, 2000). Estudios previos demuestran la existencia de clones ampliamente distribuidos y adaptados a producir infecciones en conejo, siendo el más frecuente el ST121, seguido del ST96, con mucha menor prevalencia (Viana *et al.*, 2011). Los clones ST96 carecen de ciertas enterotoxinas que las cepas tipo ST121 sí poseen (Viana *et al.*, 2015). Estas enterotoxinas tienen actividad superantigénica, pueden activar la población de células T y alteran la liberación de citoquinas para evadir el sistema inmune del hospedador (Projan y Novick, 1997).

En los últimos años se ha observado un aumento de las lesiones producidas por clones ST96, lo que podría indicar un aumento en la virulencia de dicho clon. Por ello, el objetivo de este estudio es comparar clones ST96 y ST121 de *S. aureus* aislados de conejos comerciales en los últimos 15 años.

Material y métodos

Cepas empleadas

Se seleccionaron 18 clones de *S. aureus*: 13 clones ST96, 5 clones ST121 (**Tabla 1**). Se compararon 13 cepas (11 ST96 y 2 ST121) aisladas recientemente (entre 2014 y 2017) con 5 cepas (2 ST96 y 3 ST121) aisladas entre 2001 y 2007. Estas últimas son cepas de referencia de nuestro laboratorio y se encuentran bien caracterizadas y estudiadas.

Tabla 1. Clones ST96 y ST121 seleccionados para este estudio.

| Cepa | ST | Año | Observaciones |
|--------|-----|------|----------------|
| CEU22 | 121 | 2001 | Cepa tipo |
| DL40 | 121 | 2002 | Mastitis |
| CEU268 | 121 | 2007 | Nariz sana |
| CEU231 | 96 | 2003 | Mastitis |
| CEU238 | 96 | 2001 | Mastitis |
| CEU581 | 96 | 2014 | Aislado nasal |
| CEU713 | 96 | 2014 | Mastitis |
| CEU796 | 96 | 2015 | Dermatitis |
| CEU842 | 96 | 2016 | Mastitis |
| CEU852 | 96 | 2016 | Pododermatitis |
| CEU853 | 96 | 2016 | Pododermatitis |
| CEU862 | 96 | 2016 | Dermatitis |
| CEU868 | 96 | 2016 | Metritis |
| CEU886 | 96 | 2016 | Mastitis |
| CEU887 | 96 | 2016 | Pododermatitis |
| CEU890 | 121 | 2016 | Osteomielitis |
| CEU903 | 121 | 2016 | Mastitis |
| CEU908 | 96 | 2017 | Pododermatitis |

Prueba de hemólisis

Se realizaron estrías con una colonia aislada de la cepa RN4220 en el centro de placas de agar Columbia con 5% de sangre de oveja. A continuación se realizaron dos estrías perpendiculares de una colonia aislada de cada clon de los 22 seleccionados, sin que llegaran a tocar la estría de RN4220 (Traber *et al.*, 2008). Por último, se dejó crecer 24h a 37°C, analizándose posteriormente el tipo de hemólisis.

Prueba de supervivencia en sangre

Primero se elaboró un inóculo a una concentración de 4×10^5 ufc/mL y se enfrentaron 25µL de este inóculo a 75µL de sangre heparinizada extraída de conejo. A continuación se incubó en agitación constante y se sembró en TSA a las 0h, 1h, 2h y 3h para contar las ufc/mL. Por último, se comprobó la concentración del inóculo mediante la siembra en TSA. También se comprobó que la sangre no estaba contaminada con bacterias, mediante su siembra en TSA. En cada réplica se empleó una cepa control (CEU 568 $\Delta dltB$), realizándose tres réplicas de cada clon.

Antibiograma

Se elaboró un inóculo a una concentración aproximada de 10^6 ufc/mL, para lo cual se midió la absorbancia de un cultivo crecido durante 12h de una colonia aislada de cada cepa, y se realizaron diluciones hasta alcanzar la concentración deseada. Seguidamente, con un hisopo se sembró en superficie de manera uniforme una placa de agar Muller Hinton. A continuación, se depositaron los discos impregnados con el antibiótico de elección

sobre la placa, y se incubaron en estufa a 37°C durante 20h. Por último se midió el halo de inhibición y se clasificó cada cepa como S (Sensible), I (Intermedio) o R (Resistente) (Thompson y Brown, 2014). Los antibióticos empleados fueron: Gentamicina (GM), Cloranfenicol (C), Eritromicina (E), Neomicina (N), Doxiciclina (D), Penicilina (P), Enrofloxacino (ENO), Tetraciclina (TE), Amoxicilina + Ac. Clavulánico (AMC), Estreptomocina (S) y Sulfamethoxazol + Trimethoprim (SXT).

Resultados y discusión

Prueba de hemólisis

Esta prueba permitió conocer las hemolisinas que producían las diferentes cepas, teniendo en cuenta que la cepa RN4220 sólo produce hemolisina β . El 100% de los clones ST121 aislados en ambos periodos (2001-2007 y 2014-2017) presentaban α - β - δ -hemolisinas. Por el contrario, mientras que los clones ST96 aislados entre 2001 y 2007 presentaron sólo δ -hemolisina (la hemolisina típica de este clon), las cepas ST96 aisladas en 2014-2017, además de δ -hemolisina presentaron también β -hemolisina y las tres hemolisinas (α - β y δ) típicas de los clones ST121.

Prueba de supervivencia en sangre

La respuesta inmunitaria innata resulta fundamental para evitar la infección por *S. aureus*. Mediante esta prueba se valoró la capacidad de las bacterias para evadir la respuesta innata del hospedador cuando se cultivan en sangre entera de conejo, una de las muchas características que influyen en la patogenicidad de cada cepa. Todos los clones sobrevivieron y mostraron un comportamiento similar, mostrando un crecimiento exponencial en el tiempo. No se observaron, por lo tanto, diferencias evidentes en la supervivencia en sangre entre los clones aislados en los diferentes periodos (2001-2007 frente a 2014-2017). Únicamente se observaron las diferencias propias que hay entre los clones ST121 y ST96.

Antibiograma

Mediante esta prueba se pretendió conocer las resistencias de cada cepa a los diferentes antibióticos. Las cepas de referencia, aisladas entre 2001 y 2007, no mostraron resistencia a ninguno de los antibióticos empleados. Sin embargo, se observaron resistencias a diversos antibióticos en las cepas aisladas entre 2014 y 2017. Los antibióticos frente a los que se observaron un mayor número de resistencias fueron: Eritromicina, Espiramicina, Tetraciclinas, Enrofloxacino, Estreptomocina y Gentamicina. El aumento de las resistencias de este microorganismo a un amplio rango de antibióticos (Chambers y DeLeo, 2009) complica el tratamiento de las infecciones estafilocócicas. Nuestros datos demuestran la inquietante aparición de resistencias frente a algunos de los antibióticos utilizados y confirma los fallos del empleo de los mismos en la lucha frente a *S. aureus*. Por ello, es necesario el empleo racional de estos fármacos (Ventola, 2015).

La clasificación clásica de Hermans *et al.* (1999) en base a la virulencia de los aislados de *S. aureus*, en cepas de alta y baja virulencia, fue confirmada en estudios posteriores, asociándose estas cepas de alta virulencia al clon ST121 (Vancraeynest *et al.*, 2006; Viana *et al.*, 2011). No hay estudios previos sobre la virulencia de los clones ST96 en conejos, aunque dada su distribución, procedencia y comportamiento experimental se consideraban como aislados de baja virulencia. A la vista de los resultados obtenidos, podría haberse producido un cambio en el comportamiento de las cepas ST96 a lo largo de los años (2003 vs. 2014 o 2016), que se pretende confirmar mediante una infección experimental in vivo en conejos comerciales.

Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado gracias a sendos proyectos de investigación del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2014-53405-C2-2-P) y la Generalitat Valenciana (Grupos de Investigación Emergentes GV/2015/090). Así mismo, quisiéramos dar las gracias a todos los veterinarios y ganaderos que han colaborado en la toma y remisión de las muestras.

Bibliografía

Chambers H.F., DeLeo F.R. 2009. Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nature reviews Microbiology*, 7: 629-641.

- Corpa J.M., Hermans K., Haesebrouck F. 2009. Main pathologies associated with *Staphylococcus aureus* in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 115-125.
- Enright M.C., Day N.P., Davies C.E., Peacock S.J., Spratt B.G. 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 1008-1015.
- Hermans K., De Herdt P., Devriese L.A., Hendrickx W., Godard C., Haesebrouck F. 1999. Colonisation of rabbits with *Staphylococcus aureus* in flocks with and without chronic staphylococcosis. *Veterinary Microbiology*, 67: 37-46.
- Projan S.J., Novick R.P. 1997. The molecular basis of pathogenesis, En: Crossley, K.B., Archer, G.L. (ed). *The staphylococci in human disease*. Churchill Livingstone, New York.
- Thompson T., Brown P.D. 2014. Comparison of antibiotic resistance, virulence gene profiles, and pathogenicity of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* using a *Caenorhabditis elegans* infection model. *Pathogens Global Health*, 108: 283-291.
- Traber K.E., Lee E., Benson S., Corrigan R., Cantera M., Shopsin B., Novick R.P. 2008. *agr* function in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Microbiology*, 154: 2265-2274.
- Vancaeynest D., Haesebrouck F., Deplano A., Denis O., Godard C., Wildemauwe C., Hermans K. 2006. International dissemination of a high virulence rabbit *Staphylococcus aureus* clone. *Journal of Veterinary Medicine*, 53: 502-502.
- Ventola C.L. 2015. *The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats*. *Pharmacy and Therapeutics*, 40: 277-283.
- Viana D., Selva L., Callanan J.J., Guerrero I., Ferrián S., Corpa J.M. 2011. Strains of *Staphylococcus aureus* and pathology associated with chronic suppurative mastitis in rabbits. *The Veterinary Journal*, 190: 403-407.
- Viana D., Selva L., Penades M., Corpa J.M. 2015. Screening of virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolates from rabbits. *World Rabbit Science*, 23: 185-195.

Detección mediante PCR-dúplex a tiempo real y aislamiento de virus RHDV2/b durante un brote de enteropatía mucoide

Real time duplex-PCR detection and isolation of infective RHDV2/b during a mucoid enteropathy outbreak

Mendoza M.¹, Calvete C.^{1*}, Comenge J.², Sarto M.P.¹, Jiménez de Bagüés M.P.¹, Calvo J.H.^{1,3}

¹ Dept. Sanidad y Producción Animal, Centro de Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059 Zaragoza, España

² NANTA.SA. 28760 Tres Cantos, Madrid, España

³ ARAID, 50004 Zaragoza, España

*Dirección de contacto: ccalvete@aragon.es

Resumen

El presente trabajo describe la detección mediante PCR-dúplex a tiempo real de virus RHDV2/b en muestras de duodeno, bazo y timo de un conejo de cebo de 50 días de edad muerto durante un brote de enteropatía mucoide. El brote tuvo una duración de 31 días afectando a animales con edades comprendidas entre los 42 y los 72 días, produciendo 1113 bajas (17,5%) del total de animales en cebo. En ningún momento, a lo largo de la evolución del brote, se detectaron signos típicos de mortalidad por enfermedad hemorrágica (RHD). Para confirmar la infecciosidad del virus y utilizando un inóculo purificado preparado a partir de las muestras analizadas, se infectó por vía intramuscular a un conejo susceptible a la enfermedad el cual murió tras desarrollar un cuadro agudo de RHD. A partir de una muestra de hígado de este conejo infectado se procedió a caracterizar el virus implicado mediante la secuenciación del gen que codifica para la proteína VP60, confirmando su pertenencia a la variante RHDV2/b. Este hallazgo sugiere la posibilidad de que el virus RHDV2/b pueda circular de forma silente sin causar brotes aparentes de RHD.

Palabras clave: Enfermedad hemorrágica del conejo, Enteropatía mucoide, RHDV2/b, *Oryctolagus cuniculus*.

Abstract

This work describes the duplex real time PCR detection and isolation of infective RHDV2/b virus from duodenum, spleen and thymus from a 50 days old rabbit dead during a mucoid enteropathy outbreak in a Spanish commercial rabbitry. The outbreak lasted 31 days resulting in 17.5% of mortality (1113 individuals) in 42-72 days old rabbits. During the outbreak, no sign or lesion compatible with RHD was found. One 7-week-old specific minimal disease level rabbit was inoculated intramuscularly with an inoculum obtained from homogenized positive samples, dying after developing the acute form of rabbit haemorrhagic disease (RHD). Analysis of the VP60 gene nucleotide sequence confirmed that isolated virus was RHDV2/b. This finding suggests that RHDV2/b might persist and circulate in a silent way without causing RHD outbreaks.

Keywords: Rabbit haemorrhagic disease, Mucoid enteropathy, RHDV2, *Oryctolagus cuniculus*.

Introducción

En la actualidad, la enfermedad hemorrágica del conejo (RHD) y la enteropatía mucoide (EM) son dos de las principales causas de mortalidad en las granjas cunícolas de nuestro país (Rosell y de la Fuente, 2016). La RHD está causada por un calicivirus que suele cursar con formas agudas o subagudas de la enfermedad, las cuales producen la muerte de los animales a los pocos días tras la infección, con tasas de mortalidad que pueden ser muy variables, aunque casi siempre elevadas. Durante varias décadas, el control de la enfermedad se ha basado en el vaciado sanitario de las granjas afectadas y, sobre todo, en la instauración de programas de inmunización vacunal, mediante la utilización de vacunas comerciales de elevada eficacia. No obstante, desde la aparición de

la nueva variante vírica RHDV2/b en 2010 en Francia (Le Gall-Reculé *et al.*, 2011) y su expansión a la península Ibérica en 2011 (Dalton *et al.*, 2012) la importancia de esta enfermedad se ha incrementado de manera sustancial. Ello ha sido debido tanto al rápido desplazamiento (hasta su práctica desaparición) de las cepas clásicas del virus RHDV por la variante RHDV2/b, como a la considerable pérdida de eficacia de las vacunas existentes, en combinación con la limitada disponibilidad de vacunas específicas contra el RHDV2/b, las cuales no estuvieron disponibles (con autorización) hasta 2015 y comercializadas la primavera de 2016. Todo ello, además, se ha visto acompañado de una, todavía, incompleta caracterización de la epidemiología y patogenia de este nuevo virus.

La EM, por su parte, se asume como un proceso de origen multifactorial cuya etiología es todavía difusa. Se considera que el principal proceso implicado en el desarrollo de la enfermedad es un desequilibrio en la biota intestinal del conejo que favorece la proliferación de diferentes patógenos (Baeuerl *et al.*, 2014), si bien no está claro si los agentes desencadenantes son factores medioambientales o de manejo como el tipo de alimentación (Haligur *et al.*, 2009) o bien agentes de naturaleza infecciosa como virus (Licois *et al.*, 2005; Stenglein *et al.*, 2012).

En el presente trabajo se describe la detección de virus RHDV2/b en muestras obtenidas durante un brote de EM acaecido en una granja industrial en la que no se detectaron signos aparentes de incidencia de RHD.

Material y métodos

Entre diciembre de 2015 y enero de 2016 se registró un brote de EM en una de las líneas de cebo de una granja de 1200 madres situada en la provincia de Zaragoza. En el historial de la explotación figura el haber sufrido un brote de RHD por RHDV2/b en la primavera de 2015 que fue controlado mediante vacunación, manteniendo desde entonces un programa de inmunización vacunal estándar en reproductores y reposición utilizando vacunas frente a cepas clásicas.

Los primeros casos de EM comenzaron afectando a animales de 42 días de edad, persistiendo durante los siguientes 31 días, momento en que los animales supervivientes fueron enviados a matadero con edades comprendidas entre los 64 y los 72 días. En total se produjeron 1113 bajas (17,5%) cuyo patrón de incidencia se caracterizó por una tendencia creciente durante la primera semana y una estabilización de la misma (sin aparente remisión) a lo largo de todo el brote. Durante los primeros diez días desde la aparición de los primeros casos se instauraron medidas para el control del proceso, incluyendo cambio de medicación vía pienso (Valnemulina 30 ppm), restricción de pienso, y un tratamiento anticoccidiótico vía agua.

En las necropsias realizadas a lo largo del brote se observaron claras lesiones compatibles con EM en todos los casos, con recuentos elevados de coccidios en las muestras que se remitieron a laboratorio. En ningún momento se detectaron cuadros clínicos o lesionales indicativos de RHD, salvo la presencia de marcada esplenomegalia en algunos ejemplares. Debido a ello, se remitieron muestras de duodeno, timo y bazo de un conejo de 50 días de edad con claras lesiones de EM al laboratorio del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Zaragoza (CITA) con el fin de analizar la posible presencia de calicivirus. La elección de este tipo de muestras, y no de hígado, se debió a la mayor probabilidad de detectar virus RHD en estos órganos en ausencia de cuadros agudos de la enfermedad.

Una vez en el CITA las tres muestras se analizaron por separado mediante PCR-dúplex a tiempo real (dúplex-qPCR). Esta técnica de diagnóstico, desarrollada y puesta a punto en el CITA dentro del ámbito de diferentes proyectos de investigación sobre la RHD, es altamente sensible y específica y capaz de detectar simultáneamente la presencia de virus RHDV2/b o de variantes clásicas RHDV en un mismo ensayo.

La extracción del ARN vírico se realizó utilizando el reactivo TRI Reagent (SIGMA, Life Science) siguiendo las recomendaciones del fabricante. La síntesis de ADNc mediante la retrotranscripción del ARN se llevó a cabo usando el kit SuperScript III reverse transcriptase (Invitrogen) conforme a las instrucciones del fabricante. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

Posteriormente, y para verificar la capacidad infectante del aislado, a partir de las tres muestras se preparó un único homogeneizado con 0,2 g de cada tejido y 3 ml de PBS estéril. Esta suspensión fue centrifugada y el sobrenadante obtenido, una vez filtrado (tamaño de poro: 0,22 µm), se utilizó para infectar, vía intramuscular (0,3ml) a un conejo de la raza Blanco de Nueva Zelanda de 12 semanas de edad (Granja San Bernardo, Tulebras, España), no vacunado frente a RHD y procedente de progenitores no vacunados. La ausencia de anticuerpos anti RHD fue confirmada mediante ELISA indirecto comercial (Ingezim RHDV ref.17.RHD.K1, Laboratorios INGENASA, Madrid, España). La infección experimental se realizó en las instalaciones de bioseguridad del CITA.

El conejo se monitorizó hasta su muerte, procediéndose a la necropsia y a la correspondiente toma de muestras. Una parte de tejido hepático fue analizada mediante la dúplex-qPCR para comprobar la presencia de virus RHD. Para confirmar la identidad del virus aislado se procedió a la secuenciación completa del gen que codifica para la proteína VP60. Para ello se utilizó PCR convencional, tras la cual los productos obtenidos se purificaron utilizando el kit Macherey-Nagel-Extract II purification (Macherey-Nagel, Alemania), siendo secuenciados en una plataforma ABI Prism 3700 (Applied Biosystems, Madrid, España) conforme a las instrucciones del fabricante.

Resultados y discusión

Los resultados de la dúplex-qPCR fueron positivos para RHDV2/b en las tres muestras analizadas, si bien a valores de Cq muy elevados (38-41 Cq), lo que sugiere una reducida densidad de partículas víricas en los tejidos. El conejo infectado experimentalmente murió a las 48 horas post-infección, presentando lesiones características de RHD en su forma aguda. El análisis de tejido hepático con dúplex-qPCR fue positivo para RHDV2/b mientras que el análisis de la secuencia del gen para la VP60 confirmó al aislado como perteneciente a esta variante vírica.

Estos resultados sugieren que el virus RHDV2/b podría persistir o incluso circular de forma silente sin producir brotes aparentes de mortalidad por RHD, posiblemente asociado a explotaciones con historial de brotes anteriores de RHD causados por este virus y en donde la vacunación con vacuna clásica proporciona una protección parcial frente al mismo. La asociación del RHDV2/b con procesos digestivos ya fue descrita durante los primeros brotes de la enfermedad en granjas cunícolas (Grasa y Malo, 2012). En conejo silvestre también se ha detectado este virus asociado a brotes de mortalidad con lesiones típicas de enteropatía mucoide (Calvete, datos no publicados), mientras que a lo largo de 2016, de las muestras procedentes de otras siete explotaciones con problemas debidos a procesos digestivos, y que fueron remitidas al laboratorio del CITA para ser analizadas mediante la dúplex-qPCR, en tres de ellas se detectó también la presencia del RHDV2/b en condiciones similares; baja densidad de partículas víricas en los tejidos analizados y ausencia de cuadros típicos de RHD en las explotaciones. Todo ello apoyaría la hipótesis de la persistencia y circulación del virus RHDV2/b en determinadas circunstancias sin producir brotes de RHD, asociado a procesos digestivos originados por su mayor tropismo hacia las células del epitelio intestinal en comparación a las cepas clásicas del virus (Dalton *et al.*, 2012).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación E-RTA2014-00009-00-00 del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Bibliografía

- Baeuerl C., Collado M.C., Zuniga M., Blas E., Martínez G.P. 2014. Changes in cecal microbiota and mucosal gene expression revealed new aspects of epizootic rabbit enteropathy. *PLOS ONE*. 9.
- Dalton K.P., Nieceza I., Balseiro A., Muguerza M.A., Rosell J.M., Casais R., Álvarez A.L., Parra F. 2012. Variant rabbit hemorrhagic disease virus in young rabbits, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 18: 2009-2012.
- Grasa J.R., Malo M. 2012. Enfermedad vírica-hemorrágica: Nueva variante. *Boletín de Cunicultura*, 169: 6-24.
- Haligur M., Ozmen O., Demir N. 2009. Pathological and ultrastructural studies on mucoide enteropathy in New Zealand Rabbits. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18: 224-228.
- Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Le Normand B., Plassiart G., Portejoie Y., Decors A., Bertagnoli S., Guérin J.L., Marchandeaup S. 2011. Detection of a new variant of rabbit haemorrhagic disease virus in France. *Veterinary Record*, 5: 137-138.
- Licois D., Wyers M., Coudert P. 2005. Epizootic rabbit enteropathy: experimental transmission and clinical characterization. *Veterinary Research*. 36:601-613.
- Rosell J.M., de la Fuente L.F. 2016. Causes of mortality in breeding rabbits. *Preventive Veterinary Medicine*, 127: 56-63.
- Stenglein M.D., Velazquez E., Greenacre C., Wilkes R.P., Ruby J.G., Lankton J.S., Ganem D., Kennedy M.A., DeRisi J.L. 2012. Complete genome sequence of an astrovirus identified in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) with gastroenteritis. *Virology Journal*, 9: 216.

Primeiro caso de deteção de *Talaromyces marneffe* numa liebre (*Lepus granatensis*)

Primer caso de detección de *Talaromyces marneffe* en una liebre (*Lepus granatensis*)
First case of detection of *Talaromyces marneffe* in a hare (*Lepus granatensis*)

Alves D.¹, Matos A.C.², Saraiva S.¹, Soares A.S.¹, Figueira L.², Pinheiro V.^{3,*}, Matos M.^{4,5}, Coelho A.C.⁶

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

² Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal

³ Departamento de Zootecnia, CECAV, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

⁴ Departamento de Genética e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

⁵ Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, BiOSI – Biosystems & Integrative Sciences Institute, Lisboa, Portugal

⁶ Departamento de Ciências Veterinárias, CECAV, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

* Dirección de contacto: vpinheir@utad.pt

Resumen

En este trabajo se presentan los resultados de un estudio clínico realizado en una liebre (*Lepus granatensis*) encontrada muerta en Penamacor, Castelo Branco, Portugal, que consistió en la detección e identificación de hongos filamentosos en la piel de animales salvajes. Las muestras recogidas se sembraron en medio de cultivo específico. La identificación fúngica se realizó en base de las características fenotípicas de las colonias al nivel macroscópico y microscópico. En esta investigación, hemos podido aislar el hongo *Talaromyces marneffe* de la piel de la liebre. Este resultado fue confirmado posteriormente por Nested-PCR. Hasta donde sabemos, este es el primer caso documentado de la presencia de *T. marneffe* en animales salvajes en Europa, reportado aquí en una liebre.

Palabras clave: Liebre, Nested-PCR, *Talaromyces marneffe*.

Abstract

This paper presents the results of a clinical study, which was performed in one hare (*Lepus granatensis*) found dead in Penamacor, Castelo Branco, Portugal. This study consisted in the detection and identification of filamentous fungi in the fur of wild animals. The collected samples were seeded into specific culture media. Fungal identification was made based on phenotypic characteristics of the colonies at the macroscopic and microscopic level. In this investigation, we were able to isolate the fungus *Talaromyces marneffe* from the fur of one hare. This result was posteriorly confirmed by Nested-PCR. To our knowledge, this is the first documented case of *T. marneffe* in animals in Europe, reported here in a hare.

Keywords: Hare, Nested-PCR, *Talaromyces marneffe*.

Introdução

O fungo *Talaromyces marneffe*, anteriormente conhecido como *Penicillium marneffe* é caracterizado como sendo dimórfico e patogénico. Este fungo pode provocar peniciliose, uma infeção oportunista e considerada endémica do continente asiático (Tailândia, China, Vietnam, Taiwan, Singapura e Índia), especialmente em pacientes imunodeprimidos com o vírus da imunodeficiência humana (VIH). A infeção envolve a pele, pulmões e sistema reticuloendotelial (Xiang et al., 2015). Embora existam anualmente centenas de casos de pessoas com VIH, não se verificou a existência de casos reportados sobre peniciliose marneffe em humanos na Península Ibérica e, todos os casos europeus são de indivíduos imunodeprimidos que viajaram até à Ásia e tiveram aí contacto com o agente.

O reservatório natural e os modos de transmissão e de infeção de *T. marneffe* ainda não são conhecidos. Até ao momento, os únicos reservatórios naturais conhecidos são os ratos-de-bambu *Rhizomys* e *Cannomys* spp. (Cao et al., 2011) e os humanos (Devi et al., 2009). Existem, no entanto, autores que afirmam que os cães errantes também poderão ser um potencial reservatório deste agente patogénico (Chaiyun et al., 2011). No que diz respeito ao continente Europeu, o isolamento de *Talaromyces marneffe* nunca foi reportado em animais. Neste estudo efetuou-se um rastreio fúngico a diferentes animais selvagens dos quais apenas fazia parte uma lebre.

Materiais e métodos

Neste trabalho, uma lebre (*Lepus granatensis*) fêmea e adulta, encontrada morta em Penamacor, Portugal (Figura 1) foi submetida a um exame post mortem no Serviço de Histopatologia do Departamento de Ciência Animal da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco. O animal apresentava uma boa condição corporal.



Figura 1. Local de recolha da amostra.

Após o exame post mortem, foram colhidas amostras de pelo e pele para cultura micológica. As placas foram incubadas a 28°C durante 3 a 5 dias. Os isolados fúngicos foram identificados ao nível do género de acordo com as suas características microscópicas e macroscópicas. O fungo *T. marneffe* foi identificado com base na cor das colónias e identificação microscópica, assim como, pela conversão à sua fase leveduriforme.

O DNA deste fungo foi extraído com recurso ao kit Plant/ Fungi DNA Isolation, Norgen Biotek® de acordo com as instruções do fabricante. Uma amostra de água destilada foi usada simultaneamente com as amostras (extração do controlo negativo). Para a realização da Nested-PCR foi utilizado o procedimento de Vanittanakom et al. (2002). Na primeira reação 3 µL do DNA extraído foram utilizados, juntamente com 10 µL de Mastermix (Bioron®), 1 µL de primer RRF1 (5'ATCTA AATCCCTTAACGAGGAACA3') e 1 µL de primer RRH1 (5'CCGTCAATTTCTTTAAGTTTCAGCCTT3', sendo o volume final da mix de 20 µL. As condições de PCR foram: 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C durante 30 s; 55 °C durante 30 s, 72 °C durante 2 min, e, por fim, 72 °C durante 10 min. A partir dos produtos de reação da primeira PCR, um microlitro de cada amostra foi diluído numa razão de 1:1000 e sujeito a uma segunda PCR usando primers específicos, Pm1 (5'ATGGGCCTTTCTTTCTGGG3') e Pm2 (5'GCGGGTCATCATAGAAACC). A composição da mix e as condições de PCR foram as mesmas enunciadas anteriormente, com exceção da temperatura de annealing que foi de 65 °C. Seguidamente, catorze microlitros dos produtos de reação da segunda PCR foram analisados em géis de agarose a 1%.

Resultados e discussão

Através da realização da análise macroscópica e microscópica foi possível efetuar a identificação do fungo em questão como sendo, *Talaromyces marneffe* (Figura 2). Os resultados obtidos através da técnica de Nested-PCR também comprovaram a identificação positiva para esta amostra, verificando-se a amplificação de um fragmento na zona dos 400 pb. Através destas duas metodologias foi então confirmada a presença de *T. marneffe* no pelo da lebre. A nosso ver, este é o primeiro caso documentado de isolamento de *T. marneffe* em animais na Europa, sendo este caso reportado numa área bastante afastada do seu reservatório geográfico de origem.

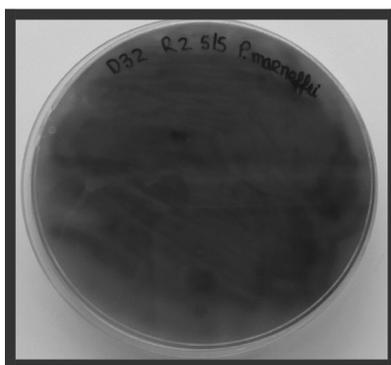


Figura 2. *Talaromyces marneffei* em cultura.

Neste estudo, foi possível identificar a presença de *Talaromyces marneffei*, um fungo patogénico e endémico do continente asiático no pelo de um animal selvagem. Este isolamento tem uma elevada relevância e poderá ter implicações na saúde pública, uma vez que, tanto os veterinários como os caçadores, técnicos das zonas de caça e meso as pessoas do mundo rural, têm contato frequente com animais desta espécie. Deverá então ser feito um alerta para o risco de infeção ao manusear amostras e tecidos infetados e alertar para a importância da utilização de equipamentos de proteção individual como batas, luvas e máscaras, para reduzir a possibilidade de contágio.

É ainda importante referir que, no caso da lebre, existe um risco acrescido devido ao facto de ser um animal utilizado na alimentação humana. Por isso, devem prosseguir estes estudos aumentando a amostragem para estudar a prevalência do fungo e cobrindo outras zonas do País.

Agradecimentos

Os autores agradecem a colaboração das técnicas do laboratório de Microbiologia Médica do Departamento de Ciências Veterinárias e do laboratório de Genética e Biotecnologia do Departamento de Genética e Biotecnologia.

Este trabalho obteve financiamento da FCT através do Projeto UID/CVT/00772/2013.

Bibliografia

- Cao C., Liang L., Wang W., Luo H., Huang S., Liu D., Xu J., Henk D.A., Fisher M.C. 2011. Common reservoirs for *Penicillium marneffei* infection in humans and rodents, China. *Emerging Infectious Diseases*, 17(2): 209-214.
- Chaiwun B., Vanittanakom N., Jiviriyawat Y., Rojanasthien S., Thorner P. 2011. Investigation of dogs as a reservoir of *Penicillium marneffei* in northern Thailand. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(4): e236-239.
- Devi S.B., Devi T.S., Ningshen R., Devi Kh.R., Singh T.B., Singh N.B. 2009. *Penicillium morneffei*, an emerging AIDS-related pathogen—a RIMS study. *Journal of the Indian Medical Association*, 107: 208-210.
- Vanittanakom N., Vanittanakom P., Hay R.J. 2002. Rapid identification of *Penicillium marneffei* by PCR-based detection of specific sequences on the rRNA gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5): 1739-1742.
- Xiang Y., Guo W., Liang K. 2015. An unusual appearing skin lesion from *Penicillium marneffei* infection in an AIDS patient in Central China. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(1):3.

ETOLOGÍA Y BIENESTAR

**- Comportamiento, miedo y estrés en conejos de engorde:
resultados en condiciones de alojamiento inadecuadas**

Zomeño C., Xiccato G., Filiou E., Birolo M., Bertotto D., Zuffellato A.,
Trocino A.

**- Producción de conejas en sistemas de alojamiento individual o
colectivo en semigrupo**

Cervera C., Martínez-Paredes E., Machado L., Villagra A.

Comportamiento, miedo y estrés en conejos de engorde: resultados en condiciones de alojamiento inadecuadas

Behaviour, fear and stress of growing rabbits: results under uncomfortable housing conditions

Zomeño C.^{1*}, Xiccato G.², Filiou E.², Birolo M.¹, Bertotto D.¹, Zuffellato A.³, Trocino A.¹

¹ Dept. Comparative Biomedicine and Food Science, University of Padova, Viale dell'Università 16, Legnaro (PD), Italy

² Dept. Agronomy, Food, Natural Resources, Animal and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, Legnaro (PD), Italy

³ A.I.A. Agricola Italiana Alimentare S.p.A., Piazzale Apollinare Veronesi, 1, San Martino Buon Albergo (VR), Italy

*Dirección de contacto: cristina.zomenosegado@unipd.it

Resumen

Se ha evaluado el comportamiento, la reactividad y el nivel de corticosterona de 376 conejos de engorde criados en grupos numerosos (20-27 conejos por recinto) desde el destete hasta el sacrificio en recintos con dos tipos de suelo (listones de madera, 3 cm entre listones, vs. listones de plástico, 0,7 cm entre listones). Los conejos alojados sobre el suelo de madera estuvieron más tiempo en reposo (68,5% vs. 67,0% del tiempo total de observación; $P=0,05$), especialmente en posición acurrucada (41,3% vs. 35,1%; $P<0,001$), que los alojados sobre el suelo de plástico. El nivel de miedo hacia los humanos no cambió con el tipo de suelo, pero los conejos sobre el suelo de madera exhibieron menos comportamientos "activos" como moverse (26,0 vs. 31,2 sec; $P<0,05$) o adoptar la posición de alerta (0,96 vs. 2,32 eventos; $P<0,01$) y más comportamientos "prudentes" como la exploración (392 vs. 354 sec; $P<0,01$) en un nuevo ambiente, y realizaron menos contactos con un objeto desconocido (50,3 vs. 87,2; $P<0,001$). El nivel de corticosterona medido en el pelo fue superior en los conejos alojados sobre el suelo de madera (14,0 ng/g vs. 12,5 ng/g; $P<0,05$) indicando así un posible mayor estrés en estos conejos.

Palabras clave: bienestar, conejos, madera, plástico, suelo.

Abstract

Behaviour, reactivity and corticosterone levels were evaluated in 376 growing rabbits reared in large groups (20-27 rabbits per pen) from weaning to slaughter in pens with two floor types (wooden slat, 3 cm between slats, vs. plastic slat, 0.7 cm between slats). Rabbits reared on the wooden floor spent more time resting (68.5% vs. 67.0% total observation time; $P=0.05$) with a crouched position (41.3% vs. 35.1%; $P<0.001$) than those reared on the plastic floor. The floor type did not affect rabbit fear towards humans, but rabbits kept on the wooden floor showed less "bold" behaviours, i.e. they decreased movement (26.0 vs. 31.2 sec; $P<0.05$) and alert (0.96 vs. 2.32 events; $P<0.01$) and increased exploration (392 vs 354 sec; $P<0.01$) in a new environment, and had less contacts with an unknown object (50.3 vs. 87.2; $P<0.001$). The higher hair corticosterone concentration likely indicated a higher stress level in rabbits reared on the wooden floor than in those reared on plastic (14.0 ng/g vs. 12.5 ng/g; $P<0.05$).

Keywords: floor, plastic, rabbits, welfare, wood.

Introducción

El bienestar animal puede ser evaluado con diferentes indicadores. La observación del comportamiento (si da muestras de dolor, presencia/ausencia de comportamientos normales, estereotipias) proporciona una información útil (Broom y Fraser, 2007). Asimismo, los test de reactividad pueden dar una visión del estado emocional de los animales en el sentido de conocer si se han adaptado bien al ambiente en el que viven. Son

ampliamente utilizados en pollos y otras especies aunque menos en conejos (Forkman et al., 2007). Además los resultados son complejos y deben ser interpretados con cautela (Trocino et al., 2013; Buijs y Tuytens, 2015). Por otra parte, el nivel de glucocorticoides o ciertos metabolitos permiten medir el estado de estrés del animal. En conejos de engorde se ha medido con éxito la concentración de cortisol y corticosterona de forma no invasiva a partir de heces y pelo (Buijs et al., 2011; Trocino et al., 2013 y 2014; Bertotto et al., 2016).

El objetivo de este trabajo fue medir el comportamiento y la reactividad así como los niveles de corticosterona en conejos de engorde cuando el alojamiento es inadecuado. Para ello, se ha comparado la respuesta de conejos criados en grupo desde el destete hasta el sacrificio en recintos con suelo de madera, que se ha visto que resulta incómodo (Trocino et al., 2014), con conejos criados en recintos con suelo de plástico.

Material y métodos

Al destete (33 d de edad), 376 conejos de genética comercial de ambos sexos fueron alojados en 16 recintos *open-top* (1,20 x 1,40 m, 1,68 m²) con dos densidades: 12 animales/m² (20 animales/recinto) y 16 animales/m² (27 animales/recinto). La mitad de los recintos estaban equipados con suelo de listones de plástico (0,7 cm entre listones) y la otra mitad con suelo de listones de madera (3 cm entre listones). Dentro de cada grupo experimental, la mitad de los animales fueron sacrificados a 76 d y la otra mitad a 83 d de edad.

El comportamiento de los conejos se grabó en vídeo durante 24 h a 50 d (todos los grupos), a 71 d (animales a sacrificar a 76 d) y a 78 d de edad (animales a sacrificar a 83 d). Se evaluó la duración y la frecuencia de: reposo (con el cuerpo acurrucado o extendido), *self-grooming*, *allo-grooming*, alimentación, bebida, movimiento, carrera, salto, erguirse, morder, olfatear, presencia de comportamientos anómalos e interacciones agresivas (Trocino et al., 2013). Estos comportamientos fueron evaluados durante 2 minutos por cada hora de observación. Los tests de reactividad se realizaron entre los 49-54 d de edad en 80 conejos y se repitieron unos días antes del sacrificio en 40 conejos (a sacrificar a 76 d) y en otros 40 (a sacrificar a 83 d). En el test de inmovilidad tónica, se registró el número de intentos necesarios para inducir inmovilidad y su duración (Ferrante et al., 1992). Para el test *open-field* se colocó al conejo dentro de un recinto (arena) (2 m x 2 m) y se registró el número de intentos y el tiempo (latencia) necesario para salir a la arena, la actividad locomotora, los intentos de fuga, el tiempo de inmovilidad y los comportamientos de exploración (Trocino et al., 2013). En el test de aproximación (*human-approach test*) un operador no vinculado con estos animales se posicionó dentro del recinto y se midió el tiempo necesario para el primer contacto animal-operador y el número total de animales en contacto con el operador (Verwer et al., 2009). En el test objeto (*novel-object test*) se introdujo una botella de plástico y un nido externo (de los utilizados en jaulas de reproductoras) dentro del recinto, que se alternaron entre los diferentes grupos experimentales, y se registró el número total de contactos animal-objeto.

Se determinó el nivel de corticosterona en heces y pelo mediante radioinmunoensayo (Trocino et al., 2014). Se tomaron muestras a 53-54 d de edad de 32 conejos (2 por recinto), a 74-75 d de 16 conejos del grupo a sacrificar a 76 d de edad (2 por recinto), y a 80-81 d de edad de 16 conejos del grupo a sacrificar a 83 d de edad.

Los datos de comportamiento se analizaron con el PROC GLIMMIX (SAS Institute, 2013), considerando como efectos fijos el tipo de suelo, la densidad de producción, la edad a la observación y sus interacciones, y la hora de observación como efecto aleatorio. Los datos del mismo recinto se trataron como medidas repetidas. Para los resultados de los tests de reactividad se utilizó también el PROC GLIMMIX y un modelo con el tipo de suelo, la densidad de producción, la edad a los tests y sus interacciones como efectos fijos, y recinto como efecto aleatorio. Por último, los niveles de corticosterona en heces y pelo se analizaron con el PROC MIXED del SAS con el mismo modelo utilizado para los tests de reactividad. En el presente trabajo se presentan los resultados relativos al efecto del tipo de suelo.

Resultados y discusión

El elenco comportamental fue diferente según el tipo de suelo (**Tabla 1**). Los conejos alojados en recintos con suelo de madera tendieron a pasar más tiempo en reposo, especialmente con el cuerpo acurrucado, que los alojados en suelo de plástico. Estos animales dedicaron menos tiempo al *allo-grooming*, a correr y a morder elementos del recinto, y realizaron menos saltos. Estas diferencias pueden ser debidas a que los conejos alojados en suelo de madera tenían miedo de desplazarse sobre este suelo puesto que el espacio que quedaba entre los listones era grande (3 cm) y podían caerse o quedarse atrapados. Preferían, en cambio, permanecer en reposo con el cuerpo acurrucado ya que esta posición era percibida como más segura.

Tabla 1. Comportamiento: % del tiempo de observación o número de eventos.

| | Tipo de suelo | | P > f |
|-----------------------------|---------------|----------|-------|
| | Madera | Plástico | |
| Reposo total (%) | 68,5 | 67,0 | † |
| Con cuerpo extendido (%) | 27,1 | 31,9 | *** |
| Con cuerpo acurrucado (%) | 41,3 | 35,1 | *** |
| Self-grooming (%) | 15,4 | 15,5 | n.s. |
| Allo-grooming (%) | 0,18 | 0,25 | † |
| Alimentación (%) | 8,59 | 8,93 | n.s. |
| Bebida (%) | 1,65 | 1,60 | n.s. |
| Movimiento (%) | 1,34 | 1,44 | n.s. |
| Carrera (%) | 0,01 | 0,07 | ** |
| Morder (%) | 0,06 | 0,14 | * |
| Olfatear (%) | 4,24 | 4,25 | n.s. |
| Erguirse (n) | 0,01 | 0,03 | n.s. |
| Salto (n) | 0,01 | 0,07 | † |
| Interacciones agresivas (n) | 0,002 | 0,01 | n.s. |

P: significación. n.s.: no significativo. †: P<0,1; *: P<0,05; **: P<0,01; ***: P<0,001.

La respuesta al test de inmovilidad tónica fue similar para los dos tipos de suelo (Tabla 2). Durante el test *open-field* (Tabla 2), los conejos alojados en suelo de madera tendieron a mostrar menos interés por entrar en la arena que los alojados en suelo de plástico, aunque el tiempo de latencia fue similar entre grupos. Una vez dentro, los conejos alojados sobre suelo de madera realizaron menos comportamientos considerados "activos" (*bold*) que los conejos en suelo de plástico: pasaron menos veces por el centro y estuvieron menos tiempo en movimiento, dedicaron menos tiempo al *grooming* y adoptaron la posición de alerta menos veces. Estos conejos en cambio

Tabla 2. Respuesta al test de inmovilidad tónica y al test *open-field*.

| | Tipo de suelo | | P > f |
|-----------------------------------|---------------|----------|-------|
| | Madera | Plástico | |
| Test de inmovilidad tónica | | | |
| Sensibles (%) | 90,0 | 93,8 | n.s. |
| Intentos (n) | 1,47 | 1,51 | n.s. |
| Inmovilidad (sec) | 54,4 | 61,3 | n.s. |
| Test <i>open-field</i> | | | |
| Entran espontáneamente (%) | 60,0 | 72,5 | † |
| Latencia (sec) | 27,3 | 27,8 | n.s. |
| Movimientos totales (n) | 35,4 | 36,3 | n.s. |
| Movimientos centrales (n) | 0,48 | 2,27 | *** |
| Exploración (sec) | 392 | 354 | ** |
| Movimiento (sec) | 26,0 | 31,2 | * |
| Carrera (sec) | 5,58 | 7,04 | n.s. |
| Standing still (sec) | 35,1 | 52,7 | * |
| Grooming (sec) | 1,94 | 4,25 | ** |
| Reposo (tumbado) (sec) | 2,76 | 1,99 | n.s. |
| Excavar (sec) | 0,68 | 0,25 | † |
| Excavar (n) | 0,44 | 0,13 | ** |
| Salto (n) | 1,57 | 0,84 | † |
| Alerta (n) | 0,96 | 2,32 | ** |

P: significación. n.s.: no significativo. †: P<0,1; *: P<0,05; **: P<0,01; ***: P<0,001.

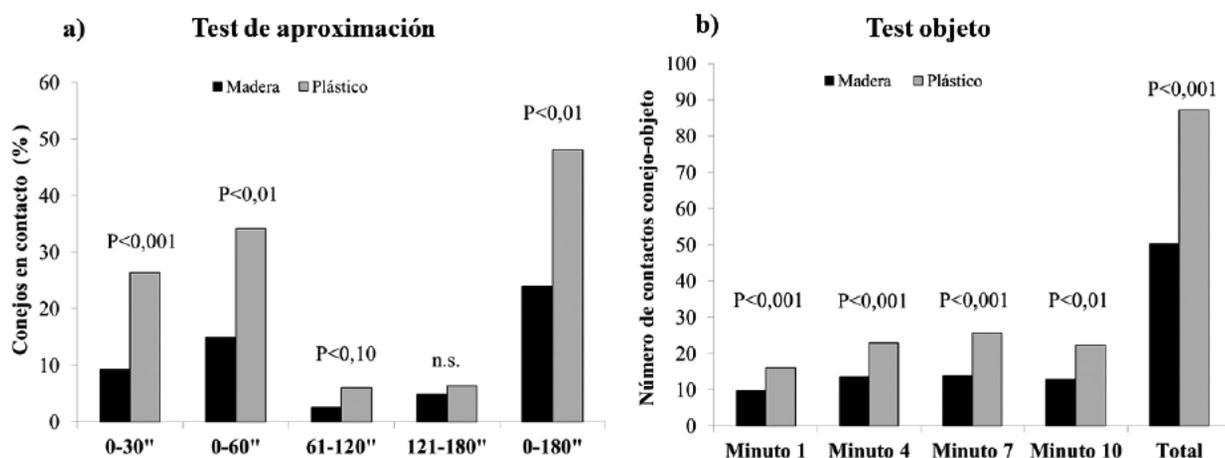


Figura 1. a) Conejos (% de animales en el recinto) que entran en contacto con el operador durante los primeros 30 segundos (0-30"), el primer (0-60"), segundo (61-120"), o tercer (121-180") minuto y durante todo el test (0-180"); b) Número de contactos conejo-objeto en el minuto 1, 4, 7 y 10 y durante todo el test; n.s.: no significativo.

dedicaron más tiempo a explorar el entorno y estuvieron menos tiempo en posición inmóvil sin realizar ningún comportamiento (*standing still*) lo que puede ser considerado como un comportamiento "prudente" en vez de un comportamiento "pasivo" o temeroso. Además estuvieron más tiempo excavando (mayor duración y número de eventos) y tendieron a realizar más saltos.

En el test de aproximación (**Figura 1**), el porcentaje de conejos en contacto con el operador durante el tiempo total fue menor para los conejos alojados en suelo de madera que para aquellos en suelo de plástico (24,0% vs. 48,1%; P<0,001). Asimismo, durante el test del objeto, los conejos en suelo de madera interaccionaron menos veces con el objeto tanto en el minuto 1, 4, 7 y 10 como en el tiempo total (50,3 vs. 87,2; P<0,001) (**Figura 1**).

La similar respuesta al test de inmovilidad tónica con los dos tipos de suelo muestra que los conejos alojados en suelo de madera no tenían un miedo mayor hacia los humanos sino a moverse sobre este tipo de suelo y como consecuencia interaccionaron menos con el humano en el test de aproximación. Asimismo, en el test *open-field*, los conejos en suelo de madera probablemente no tenían un miedo mayor al nuevo ambiente sino que se mostraron más prudentes debido a la experiencia negativa sufrida durante sus desplazamientos en el recinto. De hecho estos animales permanecieron menos tiempo inmóviles (*standing still*), comportamiento clave relacionado con una actitud temerosa (Trocino *et al.*, 2013), y además, el tiempo de latencia para entrar en la arena, considerado como el mejor indicador de miedo general (Forkman *et al.*, 2007), fue similar entre grupos. El menor número de contactos con el nuevo estímulo del test objeto en los conejos del suelo de madera también puede ser explicado por esta prudencia.

El nivel de corticosterona en el pelo de los conejos alojados en suelo de madera fue superior que en los conejos de suelo de plástico (14,0 vs. 12,5 ng/g; P<0,05), aunque no se observaron diferencias en el de heces (promedio: 42,0 ng/g) (datos no presentados en tablas). Estos resultados pueden indicar que los animales alojados en suelo de madera sufrían un mayor estrés.

En conclusión, el alojamiento sobre un suelo incómodo e inadecuado para conejos de engorde tuvo un efecto estresante que hizo modificar su comportamiento reduciendo en general el movimiento. Este factor no incrementó el miedo de los conejos hacia los humanos pero sí hizo que exhibieran menos comportamientos activos y más comportamientos prudentes cuando se expusieron a un nuevo ambiente o a nuevos objetos.

Agradecimientos

Este proyecto ha sido financiado por el séptimo programa marco de la Comisión Europea y por la Universidad de Padova (PISCOPIA CUP: C91J13001170006).

Bibliografía

- Bertotto D., Radaelli G., Negrato E., Birolo M., Bonfante L., Xiccato G., Trocino A. 2016. Changes of stress indicators in different matrices in growing rabbits before and after transport. En: 11th World Rabbit Congress. Qingdao, China, pp. 653-656.
- Broom D.M., Fraser A.F. 2007. *Domestic Animal Behaviour and Welfare*. CAB International, Wallingford, UK.
- Buijs S., Tuytens F.A.M. 2015. Evaluating the effect of semi-group housing of rabbit does on their offspring's fearfulness: can we use the open-field test? *Applied Animal Behaviour Science*, 162: 58-66.
- Buijs S., Keeling L.J., Rettenbacher S., Maertens L., Tuytens F.A.M. 2011. Glucocorticoid metabolites in rabbit faeces influence of environmental enrichment and cage size. *Physiology and Behaviour*, 104: 469-473.
- Ferrante V., Verga M., Canali E., Mattiello S. 1992. Rabbits kept in cages and in floor pens: reaction in the open field test. *Journal of Applied Rabbit Research*, 15: 700-707.
- Forkman B., Boissy A., Meunier-Salaün M.C., Canali E., Jones R.B. 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology and Behaviour*, 92: 340-374.
- SAS Institute. 2013. *SAS / STAT® 9.2 User's Guide, 2nd Edition*. SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.
- Trocino A., Majolini D., Tazzoli M., Filiou E., Xiccato G. 2013. Housing of growing rabbits in individual, bicellular and collective cages: fear level and behavioural patterns. *Animal*, 7: 633-639.
- Trocino A., Filiou E., Tazzoli M., Bertotto D., Negrato, E. Xiccato G. 2014. Behaviour and welfare of growing rabbits housed in cages and pens. *Livestock Science*, 167: 305-314.
- Verwer C.M., van Amerongen G., van den Bos R., Hendriksen C.F.M. 2009. Handling effects on body weight and behaviour of group-housed male rabbits in a laboratory setting. *Applied Animal Behaviour Science*, 117: 93-102.

Producción de conejas en sistemas de alojamiento individual o colectivo en semigrupo

Production of rabbit females housing in individual cages or in collective semi-group

Cervera C.^{1*}, Martínez-Paredes E.¹, Machado L.², Villagra A.³

¹ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España

² Programa Ciencia Sin Fronteras – CNPQ. Dep. Ciencias Agrarias, Instituto Federal Minas Gerais, Carretera Bambuí-Medeiros, km 5, 38900-000 Bambuí, Brasil

³ Centro de Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias CITA-IVIA, Polígono La Esperanza 100, 12400 Segorbe, Castellón, España

* Dirección de contacto: cervera@dca.upv.es

Resumen

Se ha comparado la vida productiva de 38 conejas durante 5 partos, la mitad alojadas en jaulas individuales y la otra mitad en un sistema que combinaba el uso de jaulas colectivas durante la gestación (hasta 28 días) y final de lactación (desde 18 a 28 días post-parto) con jaulas individuales durante el pre-parto y principio de lactación (18 días post-parto). La vida media y los datos productivos al parto no se vieron afectados por el sistema de alojamiento, pero la producción durante la lactación fue menor en el sistema de jaulas colectivas, con camadas al destete menos numerosas (9,2 vs. 10 gazapos) y gazapos menos pesados (492 vs. 531 g) que en las jaulas individuales. Del mismo modo, el consumo de pienso (317 vs. 344 g MS/d), el grosor de los depósitos grasos (6,7 vs. 7 mm) y el peso de la coneja (4416 vs. 4514 g) fueron menores en el sistema colectivo, y las principales diferencias se produjeron al final de la lactación (entre 18 y 28 días post-parto), cuando las conejas y sus camadas estaban reagrupadas.

Palabras clave: Bienestar, alojamiento en grupo, producción.

Abstract

The productive life of 38 rabbit does was measured from 5 parturitions. Half of them were allocated in individual cages and other half in a mixed housing system (collective cages during pregnancy and late lactation and individual cages from partum to 11 or 18 days post-partum). Productive life and performances at partum were not affected by housing system, but litter size and kit weight at weaning was lower for mixed housing system than for individual cage (9.2 vs. 10 kits and 492 vs. 531 g, respectively). Feed intake, perirenal fat thickness and live weight of does in mixed housing system were lower than in individual cages (317 vs. 344 g DM/d; 6.7 vs. 7 mm and 4416 vs. 4514 g, respectively), specially during 18-28 post-partum days period.

Keywords: Welfare, group housing, productivity.

Introducción

El alojamiento de las conejas reproductoras en jaulas colectivas es una de las propuestas actuales para la cría de conejos que pretende mejorar el bienestar de los animales, ya que permite el contacto social y una mayor movilidad. Sin embargo, todos los sistemas ensayados de cría de conejas en grupo han evidenciado un gran número de problemas, tanto de producción como de bienestar, debido a los problemas de agresiones entre las hembras por establecer la jerarquía en el grupo (Rommers *et al.*, 2006; Mugnai *et al.*, 2009; Graf *et al.*, 2011; Szendro *et al.*, 2013; Rommers *et al.*, 2014; Buijs *et al.*, 2015; Machado *et al.*, 2016).

Entre los distintos sistemas que se han intentado, el denominado sistema de semigrupo, en el que los animales

están juntos 21 días e individualizados otros 21, parece ser el más eficaz. Sin embargo, el problema de agresividad entre las conejas se mantiene y tiene lugar cada vez que los animales son reagrupados (Maertens *et al.*, 2011 y 2015; Maertens y Buijs, 2013) y hay todavía pocos datos que permitan contrastar estos resultados con los que se obtienen en jaulas individuales (Trocino y Xiccato, 2006; Cervera *et al.*, 2016) y algunos son poco claros (Buijs *et al.*, 2015).

El objetivo de este trabajo fue comparar ambos sistemas de alojamiento con conejas durante varios ciclos productivos.

Material y métodos

Se utilizaron 38 conejas nulíparas desde los 3 meses de vida, 19 se alojaron en jaulas individuales (grupo I), y otras 19 en jaulas colectivas (grupo G.), que fueron inseminadas por primera vez a los 4 meses de edad y a las que se controló su vida productiva durante 5 partos o hasta su muerte o eliminación. Las jaulas individuales tenían unas dimensiones de 50 x 68 cm de base y 32 cm de altura y disponían de un nidal externo en la parte delantera de 35 x 22 cm de base que estaba hundido respecto a la jaula a 22 cm de profundidad. Las jaulas comunitarias tenían unas dimensiones de 240 x 100 cm de base y una altura de 65 cm, con un espacio previsto para colocar 6 nidos de 39 x 25 cm cada uno y una altura de 36 cm que quedaban hundidos a 8 cm de profundidad. Así, las dimensiones totales de la jaula individual eran de 4170 cm² (3400 cm² en la jaula y 770 cm² en el nido), mientras que las jaulas colectivas tenían unas dimensiones de 24000 cm² y estaban diseñadas para alojar 6 conejas con sus camadas, lo que representan 4000 cm²/coneja, a los que se pueden sumar otros 975 cm², correspondientes a la parte superior del nido a la que la coneja tiene acceso y utiliza a modo de plataforma elevada.

Todas las conejas se inseminaron a los 11 días post-parto y los gazapos se destetaron a los 28 días de edad. Las conejas del grupo I permanecieron durante todo el estudio en la misma jaula individual, mientras que las del grupo G se alojaron en la jaula colectiva desde los 18 días post-parto hasta los 28 días de gestación, momento en el que era compartimentada con paredes desmontables en 6 jaulas individuales hasta los 18 días post-parto.

Se controlaron un total de 102 partos, 58 del grupo I y 44 del grupo G, cuyas camadas fueron estandarizadas con 11 gazapos después del parto.

Se midieron para cada coneja su vida en la experiencia y causa de retirada, y en cada parto se contabilizaron el número de inseminaciones realizadas, el peso de la madre, la ingestión de pienso, el grosor de sus depósitos grasos peri-renales, el número y peso de gazapos nacidos vivos y totales y el tamaño y peso de las camadas al parto, en el momento del reagrupamiento (18 días post-parto) y al destete. En el momento del parto y del destete se revisaron las madres y se anotó la presencia o no de lesiones y/o heridas.

Los datos de producción de madres y camadas se analizaron estadísticamente mediante un análisis de la varianza utilizando el paquete estadístico Statgraphics Centurion, que incluyó como factores con sus interacciones a: grupo de alojamiento (I y G), parto (1 a 5) y día del ciclo (parto, 18 y 28 post-parto). La mortalidad de las camadas entre grupos se analizó mediante el test χ^2 .

Resultados y discusión

En la **Tabla 1** se muestran los datos de producción de las conejas, el tamaño de las camadas y su mortalidad según el sistema de alojamiento.

Como se puede observar, no se registraron diferencias significativas entre sistemas de alojamiento en la vida media de las conejas, pero finalizaron el periodo experimental el doble de conejas en alojamiento individual. Hay que señalar además que más conejas se eliminaron o murieron en etapas tempranas en el grupo colectivo (32% vs. 21%), por lo que el número de partos obtenido en este grupo fue un 25% menor que en el grupo individual.

La fertilidad o la prolificidad de las conejas y el peso de los gazapos al parto tampoco se vieron afectados por el sistema de alojamiento, pero la producción durante la lactación fue peor con las conejas alojadas en las jaulas colectivas en todos los índices estudiados.

Tanto el peso de las madres, como el grosor de los depósitos peri-renales fueron menores en las conejas de las jaulas colectivas ($P < 0,05$), debido en ambos casos a pérdidas que se produjeron al destete (-2% desde el parto

Tabla 1. Efecto del alojamiento individual (I) o en grupo (G) sobre la producción de conejas durante 5 partos.

| | I | G | SE | P |
|---------------------------------------|-------|-------|------|--------|
| Coneja n= 38 | 19 | 19 | | |
| Vida (días) | 180 | 152 | 22,0 | 0,3804 |
| Finalizan 5 partos | 8 | 4 | | |
| Partos n= 102 | 58 | 44 | | |
| Inseminaciones | 1,5 | 1,6 | 0,09 | 0,5265 |
| Nacidos totales | 9,9 | 10,5 | 0,7 | 0,4345 |
| Nacidos vivos | 8,9 | 9,5 | 0,6 | 0,5071 |
| Peso gazapo vivo (g) | 58 | 56 | 2,05 | 0,2976 |
| Lactación coneja | | | | |
| Peso (g) | 4514b | 4416a | 40 | 0,0919 |
| Consumo (g MS) | 344b | 317a | 4,8 | 0,0001 |
| Grosor depósitos grasos (mm) | 7,0b | 6,7a | 0,08 | 0,0390 |
| Camadas | | | | |
| Tamaño a 18 días | 10,1b | 9,4a | 0,15 | 0,0100 |
| Tamaño destete | 10,0b | 9,2a | 0,15 | 0,0100 |
| Mortalidad parto a 18 días (%) | 9,8 | 14,3 | | 0,0814 |
| Mortalidad 18 a 28 días (%) | 0,6a | 1,8b | | 0,0214 |
| Peso gazapo a 18 días (g) | 264 | 253 | 6,8 | 0,2118 |
| Peso gazapo a destete (g) | 531b | 492a | 6,8 | 0,0204 |

SE: error estándar. P: significación estadística. MS: materia seca. Medias de la misma variable con letras distintas son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

para los depósitos grasos y -4,5% para el peso de la coneja entre los 18 y 28 días post-parto, cuando las conejas fueron reagrupadas), mientras que las conejas alojadas en jaulas individuales aumentaron los depósitos grasos (+3%) o mantuvieron el peso en los mismos periodos.

El consumo de pienso también fue menor en el grupo colectivo ($P < 0,001$) y ello es también debido a que la diferencia con el grupo individual es más importante cuando las conejas del colectivo se reagrupan (-62 gMS/d), momento en el que los gazapos también participan en dicho consumo.

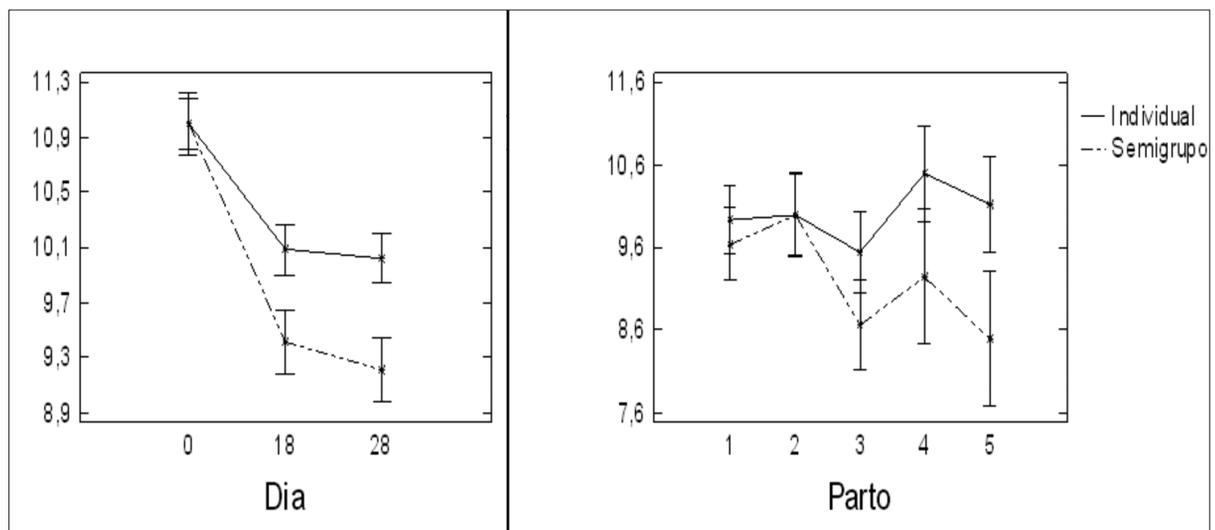


Figura 1. Efecto del alojamiento individual o en semigrupo sobre el tamaño de camada lactante y al destete durante 5 partos.

El tamaño de la camada a los 18 días y al destete fue significativamente menor ($P < 0,05$) en las jaulas comunitarias (**Figura 1**, Día), debido a una mayor mortalidad (16% vs. 10%), pero es especialmente remarcable el repunte de dicho valor después del reagrupamiento, mientras que en las jaulas individuales la mortalidad durante este periodo fue casi nula. Maertens y Buijs (2013) y Cervera et al. (2016), también registraron este efecto. Hay que señalar además que las diferencias en el tamaño de camada entre ambos grupos parecen incrementarse con el tiempo, ya que son debidas a los datos registrados en los 4º y 5º partos (**Figura 1**, Parto).

A pesar del menor tamaño de las camadas, el peso de los gazapos al destete también fue menor ($P < 0,01$) en las jaulas colectivas, mientras que a los 18 días las diferencias con los gazapos de las jaulas individuales eran menores y no significativas, lo que podría estar relacionado con las diferencias en el consumo de pienso registrado en este periodo.

Si se suman estos resultados obtenidos al destete al número de partos y a la vida media obtenidos por coneja, encontramos que en el sistema de semigrupo se ha producido un descenso de la producción de gazapos al destete de un 19% respecto al obtenido en las jaulas individuales (2,6 vs. 3,2 gazapos/día) o de un 23% en producción de carne al destete (1,3 vs. 1,7 kg/día).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la cría en semigrupo de conejas reproductoras reduce la producción de gazapos y empeora el estado corporal de las madres respecto a la cría en jaulas individuales.

Bibliografía

- Buijs S., Maertens, L., Hermans, K., Vangeyte, J., Tuytens, F. 2015. Behaviour, wounds, weight loss and adrenal weight of rabbit does as affected by semi-group housing. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 172: 44-51.
- Cervera C., Martínez-Paredes E., Machado L., Villagrà A. 2016. Efecto sobre hembras y gazapos de la cría de conejas reproductoras en jaulas colectivas. En: *XLI Symposium de Cunicultura. Hondarribia, España*, pp 130-133.
- Graf S., Bigler L., Failing K., Würbel H., Buchwalder T. 2011. Regrouping rabbit does in a familiar or novel pen: Effects on agonistic behaviour, injuries and core body temperature. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 135: 121-127.
- Machado L., Cervera C., Martínez-Paredes E., Paragliola F., Cano C. 2016. Comportamiento y manejo de conejas en sistemas de cría colectiva. En: *XLI Symposium de Cunicultura. Hondarribia, España*, pp 134-137.
- Maertens L., Buijs S. 2013. Performances de femelles logées temporairement en groupe dans des parcs polyvalents et en système tout plein tout vide. En: *15^{èmes} Journ. Rech. Cunicole. Le Mans, France*, pp 35-38.
- Maertens L., Rommers J., Jacquet M. 2011. Le logement des lapins en parcs, une alternative pour les cages classiques dans un système «duo»? En: *14^{èmes} Journ. Rech. Cunicole. Le Mans, France*, pp 85-88.
- Maertens L., Buijs S., Tuytens F.A.M. 2015. L'impact d'un logement temporairement en groupe et du sol sur le bien-être des lapines. En: *16^{èmes} Journ. Rech. Cunicole. Le Mans, France*, pp 215-218.
- Mugnai C., Dal Bosco A., Castellini C. 2009. Effect of different rearing systems and pre-kindling handling on behaviour and performance of rabbit does. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 118: 91-100.
- Rommers J.M., Boiti C., De Jong I., Brecchia G. 2006. Performance and behaviour of rabbit does in a group housing system with natural mating or artificial insemination. *Reprod. Nutr. Dev.*, 46: 677-687.
- Rommers J.M., Reuvekamp B.J.F., Gunnink H., Jong I.C. 2014. Effect of hiding places, straw and territory on aggression in group-housed rabbit does. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 157: 117-126.
- Szendro Zs., Miko A., Odermatt M., Gerencser Z., Radnai I., Dezsery B., Garai E., Nagy I., Szendro K., Matics Z. 2013. Comparison of performances and welfare of single-caged and group-housed rabbit does. *Animal*, 7: 463-468.
- Trocino A., Xiccato G. 2006. Animal welfare in reared rabbits: A review with emphasis on housing systems. *World Rabbit Sci.*, 14: 77-93.

GESTIÓN Y PRODUCCIÓN

- **El vacío llena: Impacto técnico y económico de los sistemas todo dentro todo fuera (TDTF) en cunicultura**

Rafel O., Gómez E.A., Casas J., Garriga R., Pascual M.

- **¿Son los sistemas extensivos de producción una alternativa para reducir el uso de antibióticos?**

Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

- **Efecto de línea genética, dieta y género en el crecimiento relativo en conejos**

Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

- **Obtención de productos de alto valor añadido en el sector cunícola: efecto de la línea genética y la dieta sobre caracteres de crecimiento**

Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

El vacío llena: Impacto técnico y económico de los sistemas todo dentro todo fuera (TDTF) en cunicultura

Emptying the farm to fill the pocket: Technical and economical impact of the all-in all-out system in rabbitries

Rafel O.^{1*}, Gómez E.A.², Casas J.³, Garriga R.³, Pascual M.¹

¹ IRTA, Programa de Mejora y Genética Animal, Torre Marimón, 08140 Caldes de Montbui (Barcelona)

² CITA - Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Apartado 187, 12400 Segorbe (Castellón)

³ SAT Cunicultors de Catalunya, Carrer Ull de Llebre 13, 08734 Olérdola (Barcelona)

* Dirección de contacto: oriol.rafel@irta.cat

Resumen

Se describen dos actividades de la SAT "Cunicultors de Cataluña" (SAT CC) cofinanciadas por el MAGRAMA para un uso más racional de los medicamentos en cunicultura. En la Actividad 1, se registraron datos de gestión técnica, datos estructurales y de medicación en engorde y en reproductoras de 45 explotaciones. Se analizaron los resultados comparando las explotaciones con posibilidad de realizar vacío sanitario con manejo todo-dentro-todo-fuera (pTDTF) frente a las que no (C). Las explotaciones C presentaron un valor menor en el índice tecnológico global (de 5,41 frente a 6,97) y en el índice tecnológico de bioseguridad (de 5,38 frente a 8,75), y mayor valor en la mortalidad en el período de cebo (12,2% frente al 6,4%) e índice de conversión (de 4,56 frente a 2,54), observándose también importantes diferencias en el índice de medicación IFTA en maternidad que baja de 1,67 hasta 0,81 principios activos. Para poder comparar resultados económicos entre sistemas se realizó la Actividad 2, con granjas C y granjas con manejo todo dentro todo fuera (TDTF). Se observó que todos los índices técnicos fueron mejores en las explotaciones TDTF, a excepción del IFTAc. Los índices económicos Valor Actual Neto, Tasa Interna de Retorno y Tiempo de Recuperación no alcanzaron los valores mínimos deseables para ser un negocio económicamente atractivo, en ninguno de los dos tratamientos. El Margen Coste Alimentación fue de 47,2 frente a 93,9 (€/año/hembra) y el Coste de Producción del kilo vivo fue de 1,77 frente a 1,35€/kg, ambos favorables al tratamiento TDTF. En conclusión, las granjas que incrementan la bioseguridad con vacío sanitario en un sistema de manejo TDTF tienen asegurada una mayor sostenibilidad.

Palabras clave: bdcuni, bioseguridad, conejos, desmedicación, IFTA.

Abstract

The research includes two studies developed in farms from SAT "Cunicultors de Cataluña" (SAT CC) in the frame of a project focused in the prudent use of antibiotics funded by the Spanish Ministry of Agriculture and Fisheries, Food and Environment (MAGRAMA). The first analysis included 45 farms and studied differences in farm structure, management, productivity and level of use of antibiotics (IFTA) in maternity and fattening between farms with possibility of practicing the all-in all-out system (pAIAO) and farms with continuous production (C). The technological index, technological index of biosecurity, mortality at fattening, feed conversion index and the IFTA in does were more favorable for pAIAO farms than for C farms (6.97, 8.75, 6.4%, 2.54 g/g, and 0.81 vs. 5.41, 5.38, 12.2%, 4.56 g/g, and 1.67, respectively). The second activity compared the farm structure, management, productivity and profitability of farms practicing all-in all-out (AIAO) with farms with C system. All the parameters studied were favorable for the AIAO system but no effect was found for the IFTA during fattening. The Net Present Value, Internal Rate of Return and Pay Back economic indexes indicated that rabbitries are not profitable independently of the system used. The Income Over Feed Cost was higher and the production cost per kg of rabbit was lower in farms with AIAO (93.9€/female and year and 1.35€/kg, respectively) than in farms C (47.2€/female and year and 1.77€/kg, respectively). In conclusion, sustainability would be higher in farms using the AIAO system.

Keywords: bdcuni, biosecurity, rabbit, prudent use of antibiotics, IFTA.

Introducción

En el presente trabajo se muestran algunas de las actividades realizadas por la SAT Cunicultores de Cataluña (SAT CC) en el marco del proyecto *Sostenibilidad de las granjas de conejos mediante la implementación y utilización de una herramienta de gestión basada en la plataforma **bdcuni*** cofinanciado por el MAGRAMA donde se quiere verificar la hipótesis de partida definida como: “Las granjas donde se practica el vacío sanitario con el manejo denominado todo dentro todo fuera (TDTF) tienen una mayor productividad (Kg de gazapo vivo vendidos/inseminación), realizan un uso más racional de los antibióticos y tienen un coste de producción menor, permitiendo así una mayor rentabilidad de la actividad empresarial frente a las que no lo realizan.

Una de las definiciones más aceptadas para la agricultura sostenible es la publicada por Bonny (1994): “Una agricultura ecológicamente sana, económicamente viable y socialmente justa y humana”. Esta definición tiene la ventaja de integrar las tres dimensiones: económica, social y medioambiental, que constituyen los tres pilares del desarrollo sostenible. La cunicultura sostenible será aquella que mantenga íntegros los sistemas de producción (suelo, agua, aire,...), asegurando la rentabilidad económica, las necesidades humanas del cunicultor y, a su vez, respondiendo a las sensibilidades de los ciudadanos y consumidores.

La sostenibilidad se aborda desde sus tres pilares. El pilar económico se alcanza con una mejora de la viabilidad económica con un uso más eficiente de los medios de producción. En un escenario de precios de venta estables, un aumento de la producción por dosis inseminada ha de permitir una mejora en la cuenta de resultados. Una reducción de la medicación incide en varios pilares: reduce los costes de producción, es un indicador del bienestar y de la salud animal y minimiza los riesgos de residuos medicamentosos en la canal, aumentando la calidad objetiva de la carne y mejorando la aceptación subjetiva del producto por los consumidores, dada la creciente importancia del uso prudente de los antibióticos en una sociedad cada vez más sensibilizada. Desde un punto de vista social del productor, también mejora su salud y calidad de vida, al reducirse las tensiones y ansiedades cuando aumentan los riesgos sanitarios y económicos y tener la sensación de mejorar su empatía con el medio ambiente. Conjugamos así en esta estrategia los pilares económico, social y medioambiental.

Según Maertens (2007) la principal herramienta para reducir los riesgos de enfermedad y, como consecuencia, para un menor uso de antibióticos con fines curativos es el vacío sanitario (todo-dentro-todo-fuera, TDTF) asociado con una eficaz limpieza y desinfección. Ya en el V Symposium de Cunicultura, Camps (1980) preconizaba esta técnica de manejo para iniciar cada lote en locales y con materiales limpios, como si fueran nuevos. En avicultura y porcicultura es imposible imaginar la cría de animales de diferentes edades o estados fisiológicos en una misma sala. También es impensable no realizar un vacío sanitario al final de cada ciclo con el sistema TDTF (Besalduch, 2009).

El manejo práctico del TDTF requiere un mínimo de dos salas o naves gemelas, llamadas también dúo, equipadas con jaulas que puedan utilizarse indistintamente para la reproducción de las hembras o para el cebo de los gazapos (jaulas polivalentes). Una posibilidad es que las hembras al destete sean trasladadas ya gestantes a la segunda sala, mientras los gazapos permanecen en la primera sala para realizar el cebo. Después de la entrega al matadero de todos los gazapos en un solo día y con la nave vacía, ésta se puede limpiar, desinfectar y dejar descansar durante unos días. En estas condiciones la sala estará preparada para la entrada de las hembras procedentes de la segunda sala e iniciar un nuevo ciclo productivo (Maertens, 2007). De esta forma se consigue que los animales entren a producir en una sala exenta de carga microbiana, como si fuera nueva. Siempre es mejor invertir en profilaxis que gastar en terapéutica (González, 2005).

Material y métodos

El experimento se realizó en las 45 explotaciones de la SAT CC durante todo el año 2015. En la Actividad 1, se recogieron los datos estructurales de las 45 granjas mediante una encuesta inicial. En la encuesta se recogió información sobre manejo, bioseguridad, bienestar animal, climatología, nutrición, gestión comercial y laboral, y nivel tecnológico de la granja. La información sobre tecnología en las granjas se utilizó para calcular el índice tecnológico de cada granja y el índice tecnológico en bioseguridad, descrito por Rafel et al. (2016). Se recogieron los datos de gestión técnica generados por 32 de las explotaciones en las bandas cuyo parto se había producido en el año 2015, y los índices IFTA, principios activos promedio durante el período (pa), para evaluar la intensidad de la medicación en maternidad y en gazapos (Rafel et al., 2015).

Las explotaciones con posibilidad de realizar el sistema todo dentro todo fuera se clasificaron como pTDTF. Las explotaciones en las que no era posible la anterior pauta de manejo, dado el ciclo productivo o la estructura de la granja, con animales en diferentes estados fisiológicos simultáneamente en la misma sala, manejo que impide parar la producción de la misma, se clasificaron como explotaciones de ciclo continuo (Continuo, C). En la Actividad 2, se recogieron no sólo los datos estructurales, técnicos y de medicación sino que también se pudo disponer de todos los datos económicos del 2015, reduciéndose el número a 2 granjas que realizaban sistema todo-dentro-todo fuera (TDTF) y a 3 que no realizaban este sistema (Continuo). Para cada explotación, se calculó el margen coste alimentación (MCA) como la diferencia entre los ingresos y los costes de alimentación.

El valor actual neto (VAN) se calculó como

$$VAN = -I_0 + \sum_{i=0}^n \frac{I_i}{(k + 1)^i}$$

donde I_0 es la inversión inicial realizada para poner en marcha la actividad, n es el número de ingresos futuros durante la actividad de la explotación, I_i es el valor del ingreso en el año i y k es la inflación (o rentabilidad mínima exigible a la inversión). La tasa interna de retorno (TIR) se calculó como el valor de k cuando $VAN=0$. El plazo de recuperación (Payback) se calculó como

$$Payback = \frac{I_0}{\sum_{i=0}^n I_i}$$

Los datos de ambas actividades se registraron en la base de datos del sector cunícola español **bdcuni** (Pascual *et al.*, 2008).

Los análisis estadísticos se realizaron con ayuda del programa SAS (1991). En la Actividad 1 se analizó el efecto de pTDTF sobre el índice tecnológico y el índice tecnológico de bioseguridad, los índices de gestión técnica y los índices IFTA mediante un modelo que incluía como efecto fijo la posibilidad de todo-dentro-todo-fuera (2 niveles; pTDTF y continuo). En el análisis de la edad al sacrificio se incluyó también el peso de venta a matadero como covariable. En la Actividad 2 se utilizó un modelo que incluía los efectos fijos estación (primavera, verano, otoño e invierno) y el sistema de producción (TDTF y C), ponderando por número de sucesos en cada lote.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presentan los resultados de la Actividad 1 donde se compararon las granjas de SAT CC en función de la declaración en la encuesta inicial de la posibilidad de realizar del vacío sanitario con la técnica de manejo del (pTDTF) frente a las que no realizan dicha pauta (Continuo).

En general, los resultados de las granjas de la SAT CC con posibilidad de vacío sanitario son mejores, para la mayoría de los parámetros estudiados. Sin embargo, las diferencias sólo fueron significativas para el índice tecnológico y el de bioseguridad (que es uno de los componentes del anterior), la mortalidad en el cebo, el índice de conversión y el IFTAm, encargado de reflejar la medicación en maternidad.

Comparando los resultados estructurales de las granjas donde se puede realizar o no el vacío sanitario se observó que el índice tecnológico pasa del 5,41 al 6,97 y el de bioseguridad del 5,38 al 8,75 para los sistemas sin y con vacío sanitario, respectivamente. La diferencia a nivel técnico se caracteriza por la reducción de la mortalidad en el cebo que pasa del 12,2% al 6,4%. El índice de conversión también fue mucho menor en las granjas TDTF, pasando de 4,56 a 2,54, y también fue menor el uso de medicación en la maternidad, pasando el IFTAm de 1,67 a 0,81. Esta diferencia equivale a una reducción del 52% en la medicación necesaria para la maternidad.

Para el estudio de los parámetros económicos se organizó la experiencia denominada Actividad 2 en que se compararon los resultados de una muestra de explotaciones donde sí se realizaba el vacío sanitario TDTF frente a otras en las que no se realizaba. De estas explotaciones se disponía tanto de los resultados estructurales y técnicos como de los resultados económicos.

Tabla 1. Comparación de resultados, para el total de las granjas de la SAT CC, según sistema de limpieza al final de cada ciclo: Posibilidad de realizar sistema todo dentro – todo fuera (pTDTF) frente a la no realización de esta pauta de bioseguridad (Continuo).

| | N° Granjas | Continuo | pTDTF | Sign. ¹ |
|------------------------------------|------------|----------|-------|--------------------|
| N° Hembras reproductoras | 45 | 897 | 1028 | ns |
| Índice tecnológico | 44 | 5,41 | 6,97 | * |
| Índice tecnológico de bioseguridad | 44 | 5,38 | 8,75 | * |
| Edad sacrificio (días) | 45 | 65,6 | 62,8 | ns |
| Peso de venta (g) | 45 | 2121 | 2171 | ns |
| Fertilidad (%) | 30 | 76,4 | 78,0 | ns |
| Gazapos nacidos vivos/parto | 28 | 9,15 | 9,27 | ns |
| Gazapos destetados/parto | 30 | 6,87 | 7,46 | ns |
| Kg producidos/Inseminación | 32 | 11,3 | 12,4 | ns |
| Mortalidad lactación (%) | 29 | 14,6 | 13,5 | ns |
| Mortalidad cebo (%) | 32 | 12,2 | 6,4 | * |
| Índice conversión (g/g) | 13 | 4,56 | 2,54 | * |
| IFTAc (pa ²) | 17 | 1,76 | 1,49 | ns |
| IFTAm (pa ²) | 17 | 1,67 | 0,81 | * |

¹Significación: * $p < 0,05$; ns: no significativo. ² pa: principios activos promedio durante el período.

En la **Tabla 2** se pueden ver los parámetros estructurales de las 5 granjas experimentales, repartidas en 2 granjas para el tratamiento de vacío sanitario con el manejo en TDTF y 3 granjas para el tratamiento de no vacío sanitario (Continuo). Las granjas de los dos tratamientos son muy parecidas entre ellas y tienen unos valores para distintos parámetros muy parecidos como el número de hembras reproductoras, el tipo de nave, el uso de jaula polivalente, los mecanismos de control del ambiente, el tipo de reproducción y el uso de genética. Por su parte

Tabla 2. Parámetros estructurales en función la práctica o no del vacío sanitario.

| | Continuo | TDTF |
|--|-------------|---------|
| N° Granjas | 3 | 2 |
| N° Hembras Reproductoras | 700 | 770 |
| Tipo Nave Obra | 100 | 100 |
| Tipo Nave Túnel (%) | 33 | 50 |
| Jaulas Polivalentes Maternidad (%) | 100 | 100 |
| Tipo Nido | sándwich | cupeta |
| Presencia Reposo patas(%) | 81 | 68 |
| Ambiente: Ventiladores | 100 | 100 |
| Ambiente: Cooling | 100 | 100 |
| Ritmo Reproducción (Días) | 11, 25 y 45 | 11 y 25 |
| Reproducción por inseminación (%) | 100 | 100 |
| Genética procedente de núcleo de selección (%) | 100 | 100 |
| Frecuencia de limpieza (días) | 27,8 | 11 |
| Frecuencia desinfección (días) | 7,38 | 1,61 |
| Índice tecnológico | 5,85 | 7,09 |

se diferencian en el tipo de nido utilizado, el porcentaje de reposa patas, el ritmo de limpieza y desinfección, aparte del sistema de limpieza tras cada ciclo productivo. Para el índice tecnológico los valores en las granjas experimentales son próximos a las medias obtenidas en la SAT CC para cada uno de los tratamientos.

Los resultados de la Actividad 2 se pueden ver en la **Tabla 3**, destacando la superioridad en todos los índices productivos en las granjas donde se practica el vacío sanitario con el manejo TDTF frente a las que no, siendo las

diferencias entre tratamientos significativas. Comenzando con cuestiones reproductivas, se observó una diferencia de 3,1 puntos de porcentaje de fertilidad. Para el tamaño de la camada vemos como los gazapos nacidos vivos

Tabla 3. Resultados Técnicos en función la práctica o no del vacío sanitario.

| | Continuo | TDTF | Sign. ¹ |
|-----------------------------|----------|--------|--------------------|
| Fertilidad (%) | 79,6a | 82,7b | * |
| Gazapos Nacidos vivos/parto | 8,9a | 9,5b | * |
| Gazapos destetados/parto | 7,5a | 8,3b | * |
| Kg producidos/Inseminación | 10,6a | 13,8b | * |
| Mortalidad lactación (%) | 15,3b | 12,4a | * |
| Mortalidad cebo (%) | 17,7b | 7,8a | * |
| Índice conversión (g/g) | 4,08 | 3,25 | |
| IFTAc (pa ²) | 1,48 | 1,55 | ns |
| IFTAm (pa ²) | 1,18 b | 0,56 a | * |

¹ Significación: * $p < 0,05$; ns: no significativo. ² pa: principios activos promedio durante el período.

pasan de 8,9 a 9,5 siendo compatible con la mayor capacidad de las hembras en expresar su potencial genético en un ambiente más favorable. Los destetados pasan de 7,5 a 8,3, respectivamente. En el capítulo de las mortalidades sucede lo mismo al encontrar unos valores en lactación del 15,3% frente al 12,4% en las granjas que no y sí practican el vacío sanitario, y del 17,7% y del 7,8% para el cebo respectivamente. Una manera global de interpretar estos resultados es mediante los kilos producidos por inseminación, al ser un índice sintético que contempla los anteriores parámetros. En esta Actividad, los valores fueron de 10,6 kg/inseminación frente a los 13,8 kg/inseminación, lo que representa un 30% más en las granjas TDTF. También es importante indicar como el índice de conversión del pienso fue del 4,08 y de 3,25 respectivamente para las granjas sin y con vacío sanitario, una diferencia cercana al 20%, debida entre otros factores a las mayores mortalidades en las explotaciones sin vacío sanitario (no se dispone de análisis estadístico del índice de conversión al tener un dato único global por granja).

Los índices IFTAc e IFTAm reflejan la intensidad de la medicación en la fase de engorde y en la de maternidad, y su comportamiento fue diferente. El IFTAm fue superior en las explotaciones C, 1,18 frente a 0,56 en las TDTF, casi un 53% menor. Sin embargo, no hubo diferencias entre tratamientos en el índice IFTAc con valores de niveles de 1,48 (explotaciones C) y de 1,55 (explotaciones TDTF), resultado coincidente con el obtenido en la Actividad 1. Sorprende observar como a pesar de los mejores resultados técnicos alcanzados en las granjas TDTF no se observe relación con menores niveles de medicación en engorde. Es posible que, a pesar del esfuerzo en higiene y bioseguridad, no se hayan modificado las pautas de medicación debido a factores humanos ligados al uso de medicamentos por costumbre o por temor a una reducción de los ingresos por si aparecen problemas, generando estrés al cunicultor o por presiones sociales (Bouquin *et al.*, 2013).

Aunque no sean comparables, *sensu stricto*, parece inmediato cotejar estos valores con los obtenidos en Francia. De entrada parecen más altos, pero similares si se estudian referidos al momento de puesta en marcha de estos índices en ambos países. La reducción significativa de estos índices en Francia debe explicarse en base a los esfuerzos en difusión de información y en la formación sectorial realizados durante estos últimos años (Coutelet *et al.*, 2015).

La medida del rendimiento económico se ha basado en el flujo de caja, o diferencia entre los pagos y los cobros durante toda la vida útil de la explotación. Se ha calculado el Tiempo de Recuperación de la inversión, el Valor Actual Neto (VAN), la Tasa Interna de Recuperación (TIR), el coste de producción por kg de animal vivo y por gazapo producido, el Margen coste alimentación (Pinto, 2011) y el coste de medicación por hembra y año. Para ello, se empleó la herramienta de cálculo habilitada a tal efecto por Rafel *et al.* (2012) (ver **Tabla 4**).

La traducción de los parámetros técnicos a económicos muestra la misma tendencia indicada anteriormente. Las granjas TDTF tienen unos resultados superiores a los del sistema continuo (C), como puede verse en la Tabla 4. El margen coste alimentación es un 99% superior en las granjas TDTF al pasar dicho índice de 47,2€/hembra/

Tabla 4. Resultados económicos en función la práctica o no del vacío sanitario.

| | Continuo | TDTF |
|---|----------|----------|
| Margen Coste Alimentación (€/hembra/año) | 47,2 | 93,9 |
| VAN (a 20 años, €) | -567.800 | -170.801 |
| TIR (a 20 años) | <-1 | -0,02 |
| Tiempo de recuperación, Pay-Back (años) | >20 | >20 |
| Coste/kg producido (€/kg) | 1,77 | 1,35 |
| Coste/gazapo producido (€/gazapo) | 3,66 | 2,83 |
| Coste medicación (€/hembra/año) | 6,12 | 11,60 |

año a 93,9€/hembra/año para los tratamientos C y TDTF, respectivamente, margen que resultará insuficiente para cubrir el resto de obligaciones económicas. El VAN es un índice que nos traslada a la actualidad futuros flujos en actividades económicas estudiadas a varios años vista. Con los datos recogidos, vemos un valor negativo en ambos tratamientos, indicando que la producción cunícola no es una actividad atractiva desde un punto de vista económico. Un incremento del peso a la venta hasta los 2,350 kg permitiría a las granjas TDTF colocar este índice en signo positivo. El TIR mide la rentabilidad al vencimiento de una inversión en forma de tasa anual. Se observa que es negativa para los dos tratamientos, pero el tratamiento C es 50 veces inferior, peor, que el tratamiento TDTF. El Tiempo de Recuperación o Pay-Back indica el tiempo que se tarda en recuperar la inversión inicial. En este experimento, y para los dos tratamientos, no se recuperaría antes de los 20 años del proyecto. El coste de producción, calculado por kilo producido o por gazapo fue inferior en ambos casos para el tratamiento TDTF. El coste por kilo de gazapo producido fue de 1,77€/kg para el tratamiento C frente a los 1,35€/kg para TDTF, lo que supone una reducción aproximada del 24%. Los costes por gazapo producido se elevan a 3,66€ frente a los 2,83€.

Un resultado sorprendente, tal vez debido al número reducido de explotaciones consideradas, se observó en los costes de medicación por hembra y año, en los que se incluye tanto la medicación en pienso, las vacunas y todos los productos de limpieza y desinfección. El valor es mayor en las granjas TDTF (11,6€) que en las de sistemas continuos (6,12€). El manejo TDTF es más eficiente en el uso de antibióticos en maternidad pero la aplicación de un plan sanitario de forma estricta con todas las medidas preventivas y de bioseguridad tiene un coste superior que se ve largamente compensado con unos costes de producción más bajos. Este conjunto de datos económicos indican también una mayor solidez del pilar económico de las explotaciones TDTF, augurando una mayor sostenibilidad de este tipo de explotaciones frente a las que no lo realizan.

Conclusiones

1. Este trabajo permite confirmar que la hipótesis de partida se cumple en todos sus términos.
2. El incremento de la higiene y la bioseguridad con el manejo del vacío sanitario TDTF es una práctica altamente recomendable para incrementar la rentabilidad y la sostenibilidad de las granjas de conejo, con ventajas económicas al reducir los costes de producción.
3. La producción (kilos producidos/inseminación) se ve incrementada en un 26% al pasar de 10,7 kg/inseminación a 13,5 en las explotaciones TDTF.
4. Los índices IFTA se comportan de manera diferente para maternidad y cebo. En maternidad el IFTAm se reduce más de un 50% en las granjas TDTF, mientras que las diferencias en IFTAc no fueron significativas.
5. El coste de producción (€/kilo vivo) se redujo de 1,77 a 1,35€/kg en explotaciones TDTF.
6. El VAN, a pesar de ser negativo en los dos tratamientos, podría llegar a ser positivo con un incremento del peso de sacrificio hasta los 2,350 kg en el caso de granjas TDTF.
7. Queda un largo camino por recorrer para mejorar el uso racional de los medicamentos, siendo necesario transitar por la senda de la información y de la formación de técnicos y cunicultores para consolidar una mayor reducción en el uso de antibióticos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la cofinanciación del MAGRAMA, actual Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, del proyecto 20140020001809 liderado por la SAT Cunicultors de Catalunya, y a los convenios de investigación con y entre los agentes realizadores: Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Centre de Recerca en Economia i Desenvolupament Agroalimentari (CREDA-Universitat Politècnica de Catalunya-IRTA) y el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA).

Bibliografía

- Besalduch S. 2009. Manejo en Banda única con vacío sanitario. *Boletín de Cunicultura*, 161: 20-25.
- Bonny S. 1994. Les possibilités d'un modèle de développement durable en agriculture. Le cas de la France. *Le Courrier de l'Environnement de l'INRA*, 23: 5-15.
- Bouquin S. Le, Rouxel G., Mihoc E., Chauveau V., Terrade F., Chauvin C. 2013. Facteurs humains et usages des antibiotiques en filière cunicole: Étude de quelques déterminants psychologiques. En: 15èmes Journées de la Recherche Cunicole. Le Mans, Francia, pp. 115-119.
- Camps J. 1980. El "vacío sanitario" en la práctica. Propuesta del sistema Rotativo 6. En: 5º Symposium Cunicultura ASESCU. Sevilla, España, pp. 69-79.
- Coutelet G., Chauvin C., Jouy E., Le Bouquin S., Moulin G. 2015. Réduction de l'utilisation d'antibiotiques: La démarche de la filière cunicole Guillaume. *Techniques et Marchés Avicoles*, 1: 35-40.
- González F.J. 2005. Medidas de bioseguridad en la Cunicultura. En: 30º Symposium Cunicultura ASESCU. Valladolid, España, pp. 19-23.
- Maertens L. 2007. Strategies for the reduction of antibiotic utilization during rearing. En: Giornate di Coniglicoltura, ASIC. Forlì, Italia, pp. 1-11.
- Pascual M., Serrano P., Gómez E.A. 2008. bdcuni: base de datos del sector cunícola español. *Boletín de Cunicultura*, 156: 58-59.
- Pinto M. 2011. Viabilidad técnico-económica de una cunicultura. En: 5ª Jornadas Internacionais de Cunicultura ASPOC/APEZ. Villareal, Portugal, pp. 77-91.
- Rafel O., Dalmau A., Piles M., Pascual M., Gómez E.A., Ramon J. 2015. Índices de Sostenibilidad de las granjas de conejos, incluida la frecuencia de tratamientos con antibióticos (IFTA). En: 40º Symposium de Cunicultura ASESCU. Santiago de Compostela, España, pp. 102-106.
- Rafel O., Gil J.M., Freixa E., Piles M., Ramon J. 2012. Ritmos de reproducción y edad al destete en granjas de conejos. Implicaciones técnicas y económicas. En: 37º Symposium de Cunicultura de ASESCU. Barbastro (Huesca), España, pp. 36-42.
- Rafel O., Pascual M., Gómez E.A., Piles M., Casas J., Garriga R., Ramon J. 2016. Propuesta de un nuevo índice para cuantificar el nivel tecnológico en explotaciones cunícolas de cara a la evaluación de su sostenibilidad a partir de encuestas realizadas en la SAT Cunicultors de Catalunya. En: 41º Symposium de Cunicultura ASESCU. Hondarribia (Guipúzcoa), España, pp. 162-167.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

¿Son los sistemas extensivos de producción una alternativa para reducir el uso de antibióticos?

Are the extensive production systems an alternative to reduce the use of antibiotics?

Martínez-Bas A.M.¹, Kessler M.², Marín J.J.³, Armero E.^{1*}

¹ Dept. de Agricultura, Ciencia y Tecnología. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

² Dept. de Matemáticas Aplicadas y Estadística. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

³ QUIN Sociedad Cooperativa, Ctra. Vereda del Catalán, nº 62, 30162 Santa Cruz, Murcia, España

* Dirección de contacto: eva.armero@upct.es

Resumen

Este trabajo tiene como objetivo comparar el sistema semi-intensivo (Inseminación Artificial o AI 11 días postparto = pp) con el destete de los gazapos a los 36 días (S11W36) frente al sistema extensivo (AI 25 días pp) con el destete extremadamente largo (50 días, S25W50) en una empresa privada en condiciones industriales. El sistema más extensivo es un intento de reducir los diferentes costes de producción, como el uso de antibióticos y hormonas reproductivas. La fertilidad de las primíparas en el sistema semi-intensivo es menor. La prolificidad disminuye más rápidamente para el sistema extensivo conforme aumenta el orden de parto. También este sistema presentó una menor producción total de carne, principalmente explicada por el menor número de partos por año. Se observa que la eficiencia de conversión de alimento es similar en años y sistemas. El coste de los tratamientos y salarios veterinarios es menor para el sistema extensivo y eventualmente conduce a un menor coste de producción de carne. Un aspecto relevante es la reducción de antibióticos en el sistema extensivo, lo que implica una mejora de la calidad del producto. En conclusión, cuando el objetivo es aumentar la producción de carne se recomienda un sistema intensivo, sin embargo cuando la preocupación es reducir los costes y el uso de antibióticos, entonces se puede optar por un sistema más extensivo.

Palabras clave: conejo (*Oryctolagus cuniculus*), sistema productivo, productividad, costes de producción de carne, calidad de la carne.

Abstract

This work aims at comparing semi-intensive system (Artificial Insemination or AI 11 days pp) with weaning of the kits at 36 days (S11W36) vs. extensive system (AI 25 days pp) with extremely long weaning (50 days, S25W50) in a private company in industrial conditions. The most extensive system is an attempt to reduce different production costs, such as the use of antibiotics and reproductive hormones. The conception rate for primiparous does in the semi-intensive system is lower. Prolificacy decreases faster for the extensive system with respect to parity order. It also exhibits a lower overall meat production, mainly explained through the lower number of parturitions per year. Food Conversion Ratio is observed to be similar over years and systems. The cost of veterinary treatments and salaries are lower for the extensive system and it eventually leads to a lower meat production cost. One relevant aspect is the reduction of antibiotics in the extensive system, which implies an improvement of the product quality. In conclusion, when the aim is to increase meat production an intensive system is recommended, however when the concern is to reduce costs and the use of antibiotics then extensive ones are to be preferred.

Keywords: rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), production system, productivity, meat production costs, meat quality.

Introducción

Tradicionalmente, los sistemas de producción (SP) de conejos se han clasificado de acuerdo con el intervalo de días entre el parto y una nueva inseminación artificial (IA) o el ritmo reproductivo: el SP semi intensivo (IA de 3 a 11 días postparto o pp), el semi extensivo (IA de 18 y 25 días pp) y el extensivo (IA 25 días pp en adelante). Sin

embargo, dado que las hembras sufren un déficit nutricional cuando la lactancia y el embarazo se superponen, la prolificidad puede disminuir en el siguiente parto (Castellini *et al.*, 2003), especialmente cuando el período entre el destete y el siguiente parto es muy corto. Debido a que la enteropatía mucoide aparece como un problema grave en los conejos y los tratamientos veterinarios no son completamente exitosos, los ritmos extensivos combinados con el destete tardío ayudan a que los gazapos estén inmunizados más tiempo. Además, el sistema más extensivo requiere menores costes laborales y probablemente menos tratamientos veterinarios cuando se combina con el destete tardío. Como consecuencia, se puede esperar una reducción de los costes de producción. En el presente estudio se comparan dos sistemas en condiciones reales: en el primero, las hembras se inseminan 11 días pp y las camadas se destetan a los 36 días (desde 2005 a 2007), mientras que en el segundo se inseminan las hembras a los 25 días pp y la edad de destete es de 50 días (desde 2011 hasta 2013). Además se ha realizado un análisis económico con datos actualizados al año 2013.

Material y métodos

Los cruces (F1) se produjeron en una granja industrial QUIN S.L. localizada en Fuente Álamo (Murcia) utilizando hembras de una línea materna (HYLA, Francia) inseminadas con semen de machos HYLA. Se analizaron diferentes variables reproductivas, de producción en general e índice de transformación. Además se realiza un análisis de costes para los dos sistemas de producción que consisten en un sistema semi-intensivo con IA a los 11 pp y destete a los 36 días (S11W36) y un sistema extensivo con IA a los 25 días pp y destete a los 50 días (S25W50). Se compararon estos dos sistemas de producción (**Figura 1**) y bajo dos posibilidades, cuando la IA es positiva y cuando la IA es negativa y por tanto el ciclo se alarga mucho más.

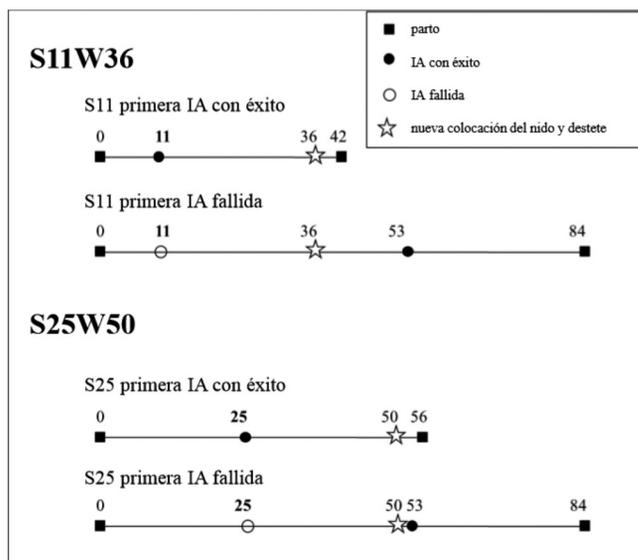


Figura 1. Descripción de los sistemas de producción (S11W36 y S25W50). Representación del ciclo productivo cuando la primera inseminación artificial (IA) ha tenido éxito o ha fallado.

Resultados y discusión

La fertilidad de las primíparas es más baja en el S11W36 cuando la primera IA no fue fallida (**Figura 2**). Las primíparas sufren un déficit de energía después de su primer parto. Tienen que superar simultáneamente lactancia y crecimiento, por lo tanto las primíparas necesitan más tiempo para recuperar su condición corporal desde el último parto. En contraste, no se observa ningún efecto del orden de parto en la fertilidad del S25W50. Respecto a la fertilidad global, no se observa ningún efecto del sistema. Castellini *et al.* (2003) observaron una mayor fertilidad cuando el sistema es más extensivo.

Por otro lado, no podemos concluir que la mejor prolificidad para S25W50 se debe a que es más extensivo (**Tabla 1**), ya que se observa la misma tendencia para las hembras nulíparas (**Figura 3**). Por lo tanto, esta diferen-

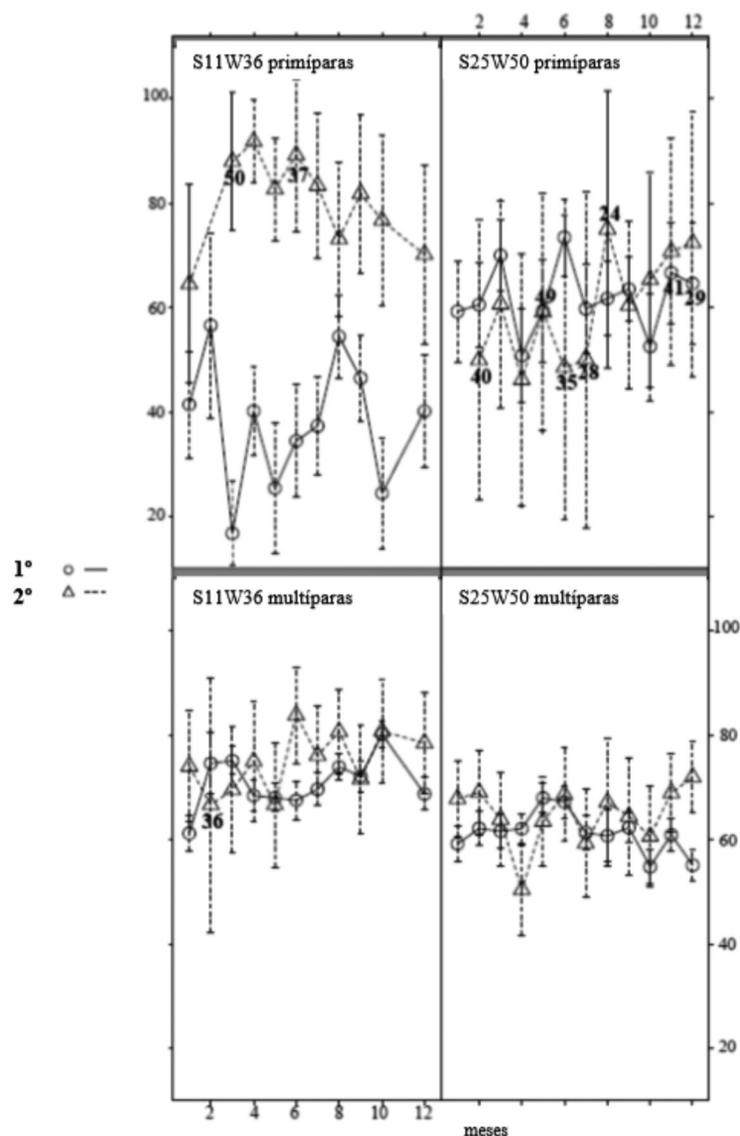


Figura 2. Fertilidad dependiendo del orden de parto, número de IA y sistema de producción. Sistemas de producción: S11W36 (AI 11 días después del parto y destete a la edad de 36 días) en 2007, mientras que S25W50 (AI 25 días después del parto y destete a la edad de 36 días) en 2011.

cia es más probable que esté relacionada con la mejora de la prolificidad en los programas de mejoramiento y de gestión entre el año 2005 (S11W36) y el año 2011 (S25W50). Además, teniendo en cuenta que en S11W36 se utilizó PMSG pero no en S25W50, la prolificidad y la eficiencia reproductiva se observan que tienden a disminuir más rápido para S25W50 (Tabla 1).

Se observa que la empresa alcanza su objetivo de un menor coste de producción de carne (€/kg) en el sistema extensivo (Tabla 2). Esto se explica principalmente por la disminución de la partida sanitaria, que se reduce a la mitad de su valor. También el costo salarial se reduce ligeramente. En sistemas extensivos, los conejos permanecen con su madre más tiempo y no reciben generalmente ningún tratamiento sanitario, la hormona PMSG no se utiliza y los ganaderos necesitan menos empleados puesto que la producción es más baja. En general, esta reducción del coste puede compensar la menor producción de carne por jaula para lograr el mismo beneficio.

Tabla 1. Rendimiento productivo (media y error estándar) para ambos sistemas de producción.

| | S11W36 2005 | | S11W36 2006 | | S11W36 2007 | | S25W50 2011 | | S25W50 2012 | | S25W50 2013 | |
|---|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|----------------|--------------|
| | n | m (e.st.) |
| Número medio de hembras | 4165 | | 4467 | | 4564 | | 6121 | | 6218 | | 6323 | |
| Ciclo reproductivo (días) | 7060 | 298a (2.36) | 3793 | 296a(3.58) | 7064 | 305a(2.38) | 7041 | 330b (2.37) | 3241 | 344b (4.00) | | |
| Número de partos por hembra | 7060 | 5.26a(0.05) | 3793 | 5.10a(0.08) | 7064 | 4.51b(0.04) | 7041 | 4.49b(0.04) | 3421 | 4.77b(0.06) | | |
| Fertilidad (%) | 40927 | 83.4a(0.18) | 44880 | 83.0a(0.18) | 35938 | 83.3a(0.20) | 46657 | 80.8b (0.18) | 36372 | 82.2a(0.20) | 34337 | 85.4c(0.19) |
| Prolificidad (gazapos nacidos vivos/parto) | 34128 | 7.82a(0.02) | 37259 | 7.77a(0.02) | 29915 | 7.97b(0.02) | 37676 | 8.31c(0.02) | 29911 | 8.81d(0.02) | 29317 | 8.79d(0.02) |
| Eficiencia productiva (gazapos vendidos/IA) | 51 | 5.95a(0.08) | 52 | 5.85a(0.08) | 42 | 6.45b(0.08) | 49 | 6.45b(0.08) | 39 | 7.10c(0.08) | 37 | 7.26c(0.09) |
| kg producidos de carne/n° hembras | 98.2 | | 94.9 | | 96.7 | | 83.5 | | 85.0 | | 88.7 | |
| Mortalidad al nacimiento (%) | 34128 | 15.3a (0.20) | 37257 | 14.5b (0.18) | 29915 | 14.6b (0.20) | 37676 | 11.1c (0.16) | 29911 | 10.5c (0.18) | 29316 | 11.0c (0.18) |
| Mortalidad después del nacimiento (%) | 51 | 17.6a (0.8) | 52 | 17.2a (0.8) | 42 | 14.0b (0.6) | 49 | 13.4b (0.5) | 39 | 10.0c (0.3) | 37 | 10.6c (0.4) |
| Consumo de pienso (kg) | | 1444492 | | 1490377 | | 1528805 | | 1798751 | | 1849478 | | 1982810 |
| Índice de Transformación | | 3.53 | | 3.52 | | 3.46 | | 3.52 | | 3.50 | | 3.54 |
| Índice de Transformación del experimento | | | | | - | | 19 | 3.6 ± 0.17 | | | | |

Sistemas de producción: S11W36. Inseminación artificial 11 días después del parto y destete a los 36 días de edad de los conejos. S25W50. Inseminación artificial 25 días después del parto y destete a los 50 días de edad de los conejos. m: media. e.st.: error estándar.

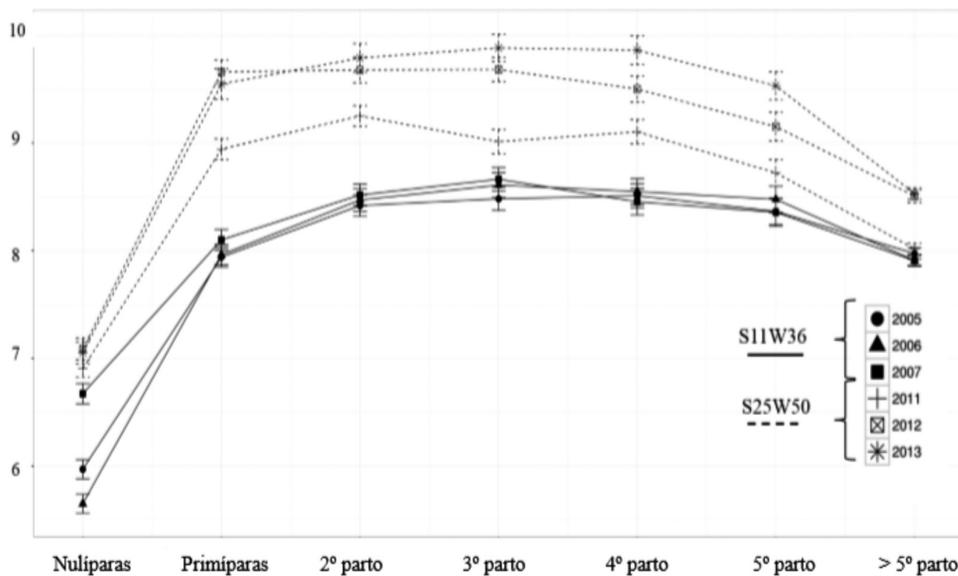


Figura 3. Prolificidad media dependiendo del orden de parto y del año. 2005, 2006 y 2007 son S11W36 (AI 11 días después del parto y destete a la edad de 36 días), mientras que 2011, 2012 y 2013 son S25W50 (AI 25 días postparto y destete a la edad de 50 días).

Tabla 2. Producción y análisis de costes para ambos sistemas de producción (precios actualizados a 2013).

| | S11W36 | | | | | | S25W50 | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|----------------|-------------|-------------|
| | 2005 | | | 2006 | | | 2007 | | | 2011 | | | 2012 | | | 2013 | | |
| | Total (€) | €/kg carne | % | Total (€) | €/kg carne | % | Total (€) | €/kg carne | % | Total (€) | €/kg carne | % | Total (€) | €/kg carne | % | Total (€) | €/kg carne | % |
| Costes Variables | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Alimentación | 507209 | 1.24 | 42.9 | 492945 | 1.16 | 42.9 | 572072 | 1.30 | 49.6 | 623328 | 1.22 | 53.7 | 649540 | 1.23 | 59.0 | 628451 | 1.12 | 56.3 |
| Sanidad | 88593 | 0.22 | 10.7 | 89449 | 0.21 | 10.7 | 90967 | 0.21 | 10.4 | 57972 | 0.11 | 5.6 | 57660 | 0.11 | 5.2 | 56224 | 0.10 | 5.0 |
| Inseminación | 27798 | 0.07 | 3.3 | 32028 | 0.08 | 3.8 | 28219 | 0.06 | 3.2 | 30438 | 0.06 | 3.0 | 26481 | 0.05 | 2.4 | 25508 | 0.05 | 2.3 |
| Hembras de reposición | 47769 | 0.12 | 5.8 | 8445 | 0.02 | 1.0 | 10219 | 0.02 | 1.2 | 11512 | 0.02 | 1.1 | 9635 | 0.02 | 0.9 | 2242 | 0.00 | 0.2 |
| Total | 671369 | 1.64 | 62.6 | 622867 | 1.47 | 58.4 | 701478 | 1.59 | 64.4 | 723249 | 1.42 | 63.4 | 743316 | 1.41 | 67.5 | 712425 | 1.27 | 63.9 |
| Costes fijos | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Salarios | 195246 | 0.48 | 25.9 | 227689 | 0.54 | 29.6 | 206783 | 0.47 | 25.5 | 251763 | 0.49 | 25.2 | 226939 | 0.43 | 20.6 | 249856 | 0.45 | 22.4 |
| Asistencia veterinaria | 10588 | 0.03 | 1.3 | 10706 | 0.03 | 1.3 | 9656 | 0.02 | 1.1 | 13110 | 0.03 | 1.3 | 13180 | 0.02 | 1.2 | 12837 | 0.02 | 1.2 |
| Seguros | 2981 | 0.01 | 0.4 | 4716 | 0.01 | 0.6 | 4060 | 0.01 | 0.5 | 6303 | 0.01 | 0.6 | 5427 | 0.01 | 0.5 | 5554 | 0.01 | 0.5 |
| Energía | 68455 | 0.17 | 5.0 | 62565 | 0.15 | 4.8 | 62894 | 0.14 | 4.9 | 82317 | 0.16 | 6.7 | 74870 | 0.14 | 6.8 | 93971 | 0.17 | 8.4 |
| Amortización | 30647 | 0.07 | 3.7 | 40290 | 0.10 | 4.8 | 27694 | 0.06 | 3.2 | 30130 | 0.06 | 2.9 | 34725 | 0.07 | 3.2 | 38240 | 0.07 | 3.4 |
| Impuestos | 9422 | 0.02 | 1.1 | 4948 | 0.01 | 0.6 | 4458 | 0.01 | 0.5 | -1358 | 0.00 | -0.1 | 2899 | 0.01 | 0.3 | 2571 | 0.00 | 0.2 |
| Total | 317339 | 0.78 | 37.4 | 350914 | 0.83 | 41.6 | 315545 | 0.71 | 35.6 | 382265 | 0.75 | 36.6 | 358041 | 0.68 | 32.5 | 403029 | 0.72 | 36.1 |
| Costes Totales | 988709 | | | 973781 | | | 1017023 | | | 1105515 | | | 1101357 | | | 1115454 | | |
| Producción de carne (Kg) | 409037 | | | 423769 | | | 441335 | | | 510810 | | | 528458 | | | 560532 | | |
| Coste de producción (€/kg) | | 2.42 | | | 2.30 | | | 2.30 | | | 2.16 | | | 2.08 | | | | |

Sistemas de producción: S11W36. Inseminación artificial 11 días después del parto y destete a los 36 días de edad de los conejos. S25W50. Inseminación artificial 25 días después del parto y destete a los 50 días de edad de los conejos.

Agradecimientos

La realización del presente trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico del proyecto CDTI (IDI-20120024) "Introducción de nuevos parámetros productivos en explotación cunícola para la obtención de productos de alto valor añadido" y al apoyo técnico de la empresa QUIN s.l.

Bibliografía

Castellini C., Dal Bosco A., Mugnai C. 2003 Comparison of different reproduction protocols for rabbit does: effect of litter size and mating interval. *Livest. Prod. Sci.*, 83: 131-139.

R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R 400 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <https://www.R401 project.org/>.

Efecto de línea genética, dieta y género en el crecimiento relativo en conejos

Effect of genetic line, diet and gender on relative growth in rabbits

Martínez-Bas A.M.¹, Kessler M.², Marín J.J.³, Armero E.^{1*}

¹ Dept. de Agricultura, Ciencia y Tecnología. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

² Dept. de Matemáticas Aplicadas y Estadística. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

³ QUIN Sociedad Cooperativa, Ctra. Vereda del Catalán, nº 62, 30162 Santa Cruz, Murcia, España

* Dirección de contacto: eva.armero@upct.es

Resumen

En el actual mercado de la producción de carne de conejo resulta necesario buscar productos de valor añadido. Por lo tanto, es relevante conocer el crecimiento relativo de partes y tejidos para diferentes líneas genéticas y dietas. En este trabajo, conejos procedentes de cruzamientos que utilizaban tres líneas genéticas como machos terminales (EBRO = EB y GRIMAUD = GR, ambas seleccionadas para la tasa de crecimiento, y HYLA, seleccionada para el tamaño de la camada), tanto machos como hembras, fueron alimentados con dos dietas diferentes (High Energy diet = HE y Control = C) y sacrificados a diferentes edades de 8 a 16 semanas. La línea EB presentó varias ventajas, ya que mostró un crecimiento temprano de la piel, la pierna delantera y la grasa intramuscular, y el desarrollo tardío de grasa escapular e inguinal. Sin embargo, la línea GR mostró un crecimiento tardío para el lomo y para el hueso. Con respecto al efecto de la dieta, los conejos alimentados con la dieta HE mostraron crecimiento tardío del hígado, piel y grasa escapular; y maduración temprana para el lomo, la profundidad de la cavidad torácica y el músculo de la pierna trasera.

Palabras clave: conejo, alometría, línea genética, dieta, canal.

Abstract

In the current market of rabbit meat production, it turns necessary to search for added-value products. It is thus relevant to know the relative growth of parts and tissues for different genetic lines and diets. In this work, three genetic lines (EBRO = EB and GRIMAUD = GR, both selected for growth rate, and HYLA, selected for litter size), both males and females, fed with two different diets (High Energy diet = HE and Control diet = C) and a slaughter age from 8 to 16 weeks were analyzed. The EB line was found to be convenient, because it showed earlier growth for skin, fore leg and intramuscular fat, and later development of scapular and inguinal fat. However, the GR line showed earlier growth for loin and later for bone. Regarding the diet effect, rabbits fed with the HE diet showed later liver growth, skin and scapular fat; and earlier maturing for loin, muscle hind leg and thoracic depth.

Keywords: rabbit, allometry, genetic line, feed, carcass.

Introducción

La alimentación ha sido el componente más importante de la producción de conejos, ya que representa el 70% de los costes (Al-Dobaib, 2010). A veces los costes de producción superan los costes de venta de carne; en consecuencia, el sistema se vuelve insostenible. Esta situación es el resultado de la inestabilidad de los precios de referencia en subasta, que están vinculados a los precios de venta al consumidor y a la estacionalidad del sector. En España, entre 2013 y 2014, el valor de producción final se redujo un 7,65%, como consecuencia de la reducción de los precios de venta (Montero de Vicente, 2015). Además, el consumo per cápita de carne de conejo en España disminuyó de 1,44 a 1,29 kg/persona y año de 2010 a 2015. En este contexto, es necesario buscar alternativas para aumentar el consumo de carne de conejo y agregar valor al producto. Estas alternativas pueden incluir piezas nobles cortadas en bandejas o productos procesados como hamburguesas o salchichas que abren la puerta a nuevos mercados. Para producir estos productos de valor añadido se necesitan animales más grandes para obtener más carne y facilitar la disección de la canal, lo que hace relevante investigar el

crecimiento relativo de las diferentes partes y tejidos. Para analizar el crecimiento relativo, se utiliza el modelo alométrico descrito por Huxley (1932).

Aunque las líneas para las carnicerías se seleccionan generalmente por la tasa de crecimiento, es una práctica común que las hembras seleccionadas originalmente por los rasgos reproductivos, se utilicen para la carne procesada cuando tienen que ser quitadas. Además, hasta nuestro conocimiento, no hay estudios que analicen el efecto de la dieta en el crecimiento relativo. La edad de sacrificio para los conejos se eligió de 8 a 16 semanas para el estudio. El valor más bajo de 8 semanas corresponde a la edad habitual en el sacrificio en la industria actualmente para vender el conejo entero, mientras que 16 semanas es el tiempo más allá del cual el nivel de grasa hace que el crecimiento adicional no sea rentable. Este estudio se realizó en una finca industrial con gran cantidad de animales con el objetivo de evaluar la mejor línea genética y dieta, junto con su peso óptimo de sacrificio, para obtener productos alternativos y de valor añadido.

Material y métodos

Todos los procedimientos experimentales con animales fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Politécnica de Cartagena. El estudio se llevó a cabo en una finca industrial situada en Fuente Álamo llamada QUIN S.L. Éste incluyó un total de 2294 conejos en un diseño factorial 3x2x2, con tres líneas genéticas (HYLA seleccionada por tamaño de camada, EBRO y GRIMAUD, ambas seleccionadas por tasa de crecimiento), dos dietas (dieta control y de alta energía) y dos géneros (masculino y femenino). Los conejos se pesaron de 8 a 16 semanas de edad. Había aproximadamente 24 conejos por línea genética, dieta, sexo y edad de sacrificio. Desde el destete a las 7 semanas hasta el sacrificio todos los animales fueron alimentados *ad libitum* con dos dietas comerciales peletizadas (dieta de control = dieta C y dieta de alta energía = dieta HE). La Energía Metabolizable fue de 2100 kcal/kg para la dieta C (materia seca, 89%, proteína cruda, 15%, extracto etéreo, 2,5%, fibra cruda, 25%, almidón, 8%, detergente ácido, 25%, detergente neutro Fibra, 40%, ceniza, 11%) y 2400 kcal/kg para la dieta HE (materia seca, 89%, proteína cruda 16% extracto etéreo 3% fibra cruda 17% almidón 12% fibra detergente ácido 22% fibra detergente neutro 35% , Cenizas, 11%).

Los animales de los diferentes tratamientos (línea genética, dieta y género), fueron pesados y sacrificados por exanguinación de 8 a 16 semanas de edad. Las canales fueron procesadas según Blasco & Ouhayoun (1993). El peso de grasa diseccionable se calculó como la suma de los tres depósitos de grasa. La canal se dividió según el método de disección utilizado por Deltoro & López (1985), obteniendo patas delanteras, incluyendo los músculos de inserción; pecho y costillas, cortando en la articulación entre la última torácica y la primera vértebra lumbar; lomo, incluidas las vértebras sacras y excluyendo las paredes abdominales; y patas traseras, incluyendo el hueso coxal. La pata trasera derecha de cada conejo fue diseccionada, y la carne y hueso de la pata trasera fueron pesados. Todos los pesos se midieron en gramos. Se picaron 634 muestras de carne de la pata trasera y se determinó la grasa intermuscular e intramuscular mediante el método indirecto Near Infrared Spectroscopy, NIR, utilizando el equipo FoodScan TM.

Cada variable de interés se relacionó con el Peso Vivo al Sacrificio (PVS) por la ecuación alométrica Huxley (1932) en modo logarítmico: $\log y_{ijkl} = \log b_{ijk} + k_{ijk} \log x_{ijkl} + e_{ijkl}$. Donde $\log y_{ijkl}$ es el logaritmo de conejo *l* dentro del grupo-línea genética *i*, dieta *j*, sexo *k* (logaritmos en la base 10), $\log b_{ijk}$ es el valor de $\log b$ para el grupo-línea genética *i*, dieta *j*, sexo *k*, k_{ijk} es el coeficiente alométrico de Huxley de grupo-línea genética *i*, dieta *j*, sexo *k*, $\log x_{ijkl}$ es el logaritmo del PVS para el mismo individuo, mientras que e_{ijkl} es el residuo. Todos los análisis se realizaron utilizando software estadístico R (R Core Team, 2016). De acuerdo con esta ecuación, cuando $k < 1$ el componente es de maduración precoz, cuando $k > 1$ el componente tarda en madurar, y cuando $k=1$ hay isometría, lo que indica que el componente y el SW (Slaughter Weight) animal maduran a la misma tasa.

Resultados y discusión

La línea genética afectó al crecimiento de la piel, la canal de referencia, las vísceras del pecho y las costillas, el hígado y los riñones. La dieta tuvo un efecto sobre el crecimiento del hígado y hubo una tendencia en la piel ($P < 0,060$) y en la canal fría ($P < 0,078$). Y el sexo mostró efecto sobre la piel y la canal fría (Tabla 1).

En cuanto al crecimiento de la piel, la línea genética GR mostró un crecimiento posterior a HY, mientras que EB y HY presentaron patrones similares. Mientras que Pascual *et al.* (2014) en conejos, no encontraron cambios en el crecimiento relativo de la piel entre las líneas seleccionadas por la tasa de crecimiento.

El efecto principal en la dieta fue en el desarrollo del hígado, ya que los conejos alimentados con la dieta HE mostraron más tarde el crecimiento del hígado que los alimentados con dieta C. Además, la piel de conejos alimentados con la dieta HE tiende a crecer más tarde que la piel de conejos alimentados con dieta C ($P < 0,060$). El trabajo de campo se llevó a cabo en invierno y los conejos alimentados con la dieta HE tenían más energía disponible para mantener su temperatura corporal, por lo que el desarrollo de la piel era menos necesario para ellos.

Con respecto al efecto de género, se encontró que los machos mostraron un crecimiento tardío de la piel y un crecimiento de canal fría más temprano que las hembras.

Tabla 1. Diferencias de mínimos cuadrados (LSD) y error estándar de la diferencia (ESD) de los coeficientes alométricos k de Huxley para las vísceras, los órganos y la canal fría respecto a PVS.

| Componente | LÍNEA GENÉTICA | | | | | | DIETA | | | | | | GÉNERO | | | | | |
|------------|----------------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--|--|--|
| | HY_EB | ESD | P-valor | EB_GR | ESD | P-valor | HY_GR | ESD | P-valor | HE_C | ESD | P-valor | 2_1 | ESD | P-valor | | | |
| Pi | -0,017 | 0,033 | 0,616 | -0,052 | 0,031 | 0,101 | -0,068 | 0,034 | 0,044 | 0,049 | 0,026 | 0,060 | -0,051 | 0,026 | 0,050 | | | |
| CF | -0,002 | 0,013 | 0,861 | -0,017 | 0,012 | 0,175 | -0,019 | 0,013 | 0,151 | 0,018 | 0,010 | 0,078 | 0,015 | 0,010 | 0,014 | | | |
| CR | 0,002 | 0,024 | 0,931 | 0,047 | 0,023 | 0,044 | 0,049 | 0,025 | 0,049 | -0,013 | 0,019 | 0,499 | -0,013 | 0,019 | 0,510 | | | |
| VPC | -0,114 | 0,032 | <0,000 | 0,028 | 0,031 | 0,365 | -0,086 | 0,033 | 0,009 | 0,038 | 0,026 | 0,137 | -0,003 | 0,026 | 0,898 | | | |
| Hi | -0,032 | 0,042 | 0,449 | 0,091 | 0,041 | 0,026 | 0,059 | 0,044 | 0,178 | 0,121 | 0,034 | <0,000 | -0,051 | 0,034 | 0,131 | | | |
| Ri | -0,037 | 0,032 | 0,253 | 0,068 | 0,031 | 0,027 | 0,031 | 0,033 | 0,349 | 0,028 | 0,026 | 0,281 | 0,013 | 0,026 | 0,611 | | | |

Línea genética: HY - Hyla, EB - Ebro, GR - Grimaud. Dieta: HE - High energy diet, C - Control diet, Género: F- hembras, M - machos. Pi: piel. CF: canal fría. CR: canal de referencia. VPC: vísceras de pecho y costillas. Hi: hígado. Ri: riñones. PVS: Peso Vivo Sacrificio. Diferencias significativas para P -valor $< 0,05$.

En cuanto al efecto de la línea genética, para la cabeza, la línea EB presentó el crecimiento más temprano. Para las patas delanteras EB y HY maduran antes de GR. Para el lomo GR madura antes que EB, que madura antes que HY (Tabla 2). La selección por velocidad de crecimiento no tuvo el mismo efecto sobre el crecimiento relativo de los diferentes cortes en la canal. Deltoro & López (1985) no encontraron diferencias entre los conejos seleccionados para la tasa de crecimiento respecto a la línea materna, y Pascual et al. (2014) no observaron un efecto del proceso de selección para la tasa de crecimiento después de la 18ª generación de selección.

Tabla 2. Diferencias de mínimos cuadrados (LSD) y error estándar de la diferencia (ESD) de los coeficientes alométricos k de Huxley para despiece de la canal, músculo y hueso de la pata trasera respecto a PVS.

| Componente | LÍNEA GENÉTICA | | | | | | DIETA | | | | | | GÉNERO | | | | | |
|------------|----------------|-------|---------|---------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--|--|--|
| | HY_EB | ESD | P-valor | EB_GR | ESD | P-valor | HY_GR | ESD | P-valor | HE_C | ESD | P-valor | 2_1 | ESD | P-valor | | | |
| C | 0,048 | 0,019 | 0,013 | -0,043 | 0,019 | 0,021 | 0,005 | 0,020 | 0,788 | -0,027 | 0,015 | 0,082 | -0,040 | 0,015 | 0,010 | | | |
| PD | -0,008 | 0,022 | 0,719 | -0,070 | 0,021 | 0,001 | -0,078 | 0,022 | 0,001 | 0,013 | 0,017 | 0,448 | -0,021 | 0,017 | 0,214 | | | |
| PT | -0,001 | 0,017 | 0,939 | -0,011 | 0,016 | 0,475 | -0,013 | 0,017 | 0,459 | -0,015 | 0,013 | 0,241 | 0,028 | 0,013 | 0,031 | | | |
| PC | 0,011 | 0,035 | 0,760 | 0,033 | 0,033 | 0,322 | 0,043 | 0,036 | 0,222 | 0,016 | 0,027 | 0,551 | 0,013 | 0,027 | 0,628 | | | |
| L | 0,091 | 0,037 | 0,013 | 0,07 | 0,034 | 0,029 | 0,165 | 0,037 | <0,000 | -0,209 | 0,029 | <0,000 | -0,141 | 0,029 | <0,000 | | | |
| MPT | 0,001 | 0,019 | 0,963 | -0,0067 | 0,018 | 0,709 | -0,006 | 0,019 | 0,762 | -0,032 | 0,015 | 0,030 | 0,006 | 0,015 | 0,690 | | | |
| HPT | 0,010 | 0,032 | 0,749 | -0,058 | 0,030 | 0,056 | -0,048 | 0,033 | 0,140 | 0,039 | 0,025 | 0,119 | 0,106 | 0,025 | <0,000 | | | |

Línea genética: HY - Hyla, EB - Ebro, GR - Grimaud. Dieta: HE - High energy diet, C - Control diet, Género: F- hembras, M - machos. C: cabeza. PD: patas delanteras. PT: patas traseras. PC: pecho y costillas. L: lomo. MPT: músculo pata trasera. HPT: hueso pata trasera. PVS: Peso Vivo Sacrificio. Diferencias significativas para P -valor $< 0,05$.

El efecto más importante de la dieta se encontró en el lomo, mostrando una maduración temprana cuando los conejos fueron alimentados con la dieta HE. En el efecto del género, el crecimiento de la cabeza y el lomo fue anterior para las hembras, mientras que el crecimiento de la pata trasera y su hueso fue posterior para los machos, siendo esta última diferencia elevada.

Las líneas GR y EB desarrollaron grasa escapular e inguinal posterior a la línea HY. No se observaron diferencias significativas para perirrenal y toda la grasa diseccionable (**Tabla 3**). Para la grasa intramuscular, GR presentó crecimiento posterior a EB y HY. Pascual et al. (2014) y Deltoro & López (1985) no encontraron efecto de la selección sobre la tasa de crecimiento en el crecimiento relativo de la grasa diseccionable.

Se encontró que el único efecto de la dieta estaba en la grasa escapular, en la que los conejos alimentados con HE mostraron un crecimiento posterior.

No se observó ningún efecto de género para el desarrollo de la grasa en estas edades, de acuerdo con Pascual et al. (2014). En nuestros resultados, la grasa inter-intramuscular mostró una maduración temprana (**Tabla 3**). Sólo se ha encontrado un trabajo (Vezinhet y Prud'Hon, 1975) que analiza la evolución de varios depósitos adiposos en conejos en crecimiento de 10 días a 26 semanas de edad y señalaron que el patrón de desarrollo de los mismos depende de la especie, obteniendo resultados cercanos a la isometría para esta variable.

Tabla 3. Diferencias de mínimos cuadrados (LSD) y error estándar de la diferencia (ESD) de los coeficientes alométricos k de Huxley para grasa intermuscular respecto a PVS y grasa intramuscular respecto a la pata trasera.

| Componente | LÍNEA GENÉTICA | | | | | | DIETA | | | GÉNERO | | | | | |
|---------------|----------------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|--------|-------|---------|
| | HY_EB | ESD | P-valor | EB_GR | ESD | P-valor | HY_GR | ESD | P-valor | HE_C | ESD | P-valor | 2_1 | ESD | P-valor |
| Escapular Fa | -0,282 | 0,098 | 0,004 | 0,029 | 0,094 | 0,755 | -0,253 | 0,100 | 0,012 | 0,275 | 0,077 | 0,000 | -0,117 | 0,078 | 0,131 |
| Inguinal Fa | -0,317 | 0,096 | 0,001 | 0,090 | 0,092 | 0,328 | -0,227 | 0,099 | 0,022 | 0,115 | 0,076 | 0,132 | 0,124 | 0,076 | 0,104 |
| Perirrenal Fa | -0,003 | 0,088 | 0,974 | -0,115 | 0,085 | 0,176 | -0,118 | 0,090 | 0,193 | 0,103 | 0,070 | 0,141 | -0,075 | 0,070 | 0,286 |
| DFa | -0,170 | 0,111 | 0,126 | 0,130 | 0,111 | 0,242 | -0,040 | 0,116 | 0,731 | 0,139 | 0,092 | 0,131 | -0,088 | 0,091 | 0,332 |
| Intramsc Fa | -0,087 | 0,086 | 0,312 | -0,187 | 0,083 | 0,025 | -0,274 | 0,087 | 0,002 | 0,082 | 0,068 | 0,233 | 0,080 | 0,068 | 0,240 |

Línea genética: HY - Hyla, EB - Ebro, GR - Grimaud. Dieta: HE - High energy diet, C - Control diet, Género: F - hembras, M - machos. Escapular Fa: grasa escapular. Inguinal Fa: grasa inguinal. Perirrenal Fa: grasa perirrenal. DFa: grasa diseccionable. Intramsc Fa: grasa intramuscular de la carne de la pata trasera. PVS: Peso Vivo Sacrificio. Diferencias significativas para P-valor < 0,05.

Conclusiones

Teniendo en cuenta los diferentes patrones de crecimiento relativo de las partes y tejidos de la canal se encontró que la línea EB era la más conveniente, ya que mostró un crecimiento anterior de la piel, la pierna delantera y la grasa intramuscular y posterior desarrollo de grasa escapular e inguinal. Sin embargo, otros rasgos deben ser considerados en la producción de carne, como la tasa de crecimiento y la proporción para transformar la alimentación en carne.

Los conejos alimentados con la dieta HE presentaron varias ventajas, tales como la maduración temprana para el lomo y para la pierna posterior del músculo y posterior maduración en la grasa escapular. Además, se encontró que la dieta HE presentaba un crecimiento posterior del hígado y la piel y una profundidad torácica más temprana.

Se encontraron pocas diferencias entre los géneros; los machos mostraron un crecimiento posterior de la piel y un crecimiento de la canal más temprano que las hembras. El crecimiento de la cabeza y el lomo fue anterior para las hembras, mientras que el crecimiento de la pata trasera y su hueso fue anterior para los machos.

Agradecimientos

La realización del presente trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico del proyecto CDTI (IDI-20120024) y al apoyo técnico de la empresa QUIN s.l.

Bibliografía

- Al-Dobaib S.N. 2010. *Effect of diets on growth, digestibility, carcass and meat quality characteristics of four rabbit breeds. Saudi Journal of Biological Sciences*, 17: 83-93.
- Blasco, A., Ouhayoun, J. 1993. *Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. World Rabbit Science*, 4(2): 93-99.
- Deltoro J., López, A.M. 1985. *Allometric changes in rabbits. Journal of Agricultural Science*, 105: 339-346.
- Huxley J.S. 1932. *Problems of relative growth. London, Methuen.*
- Montero de Vicente L. 2015. *La cadena de valor del sector cunícola en España. Segmentación del consumo en base al Food-Related Lifestyle (FRL). PhD. Universitat Politècnica de València.*
- Pascual M., Pla. M., Blasco A. 2014. *Effect of selection for growth rate on relative growth in rabbits. Journal of Animal Science*, 86: 3409-3417.
- R Core Team. 2016. *R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL.*
- Veziñhet A., Prud'hon M. 1975. *Evolution of various adipose deposits in growing rabbits and sheeps. Animal Production*, 20: 363-370.

Obtención de productos de alto valor añadido en el sector cunícola: efecto de la línea genética y la dieta sobre caracteres de crecimiento

Obtaining high added value products in the rabbit production: effect of genetic line and diet on growth traits

Martínez-Bas A.M.¹, Kessler M.², Marín J.J.³, Armero E.^{1*}

¹ Dept. de Agricultura, Ciencia y Tecnología. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

² Dept. de Matemáticas Aplicadas y Estadística. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

³ QUIN Sociedad Cooperativa, Ctra. Vereda del Catalán, nº 62, 30162 Santa Cruz, Murcia, España

* Dirección de contacto: eva.armero@upct.es

Resumen

El objetivo del presente trabajo es la búsqueda de una línea genética y una alimentación adecuada para producir canales de conejo con mayor peso al sacrificio para la obtención de productos alternativos que abran la puerta a nuevos mercados. Para llevar a cabo el estudio, se seleccionaron 2.294 conejos a las 7 semanas de edad (machos y hembras, uno de cada camada) procedentes del cruzamiento de la hembra Hyla con machos terminales de tres líneas genéticas (Grimaud = GR, Ebro = EB e Hyla = HY), la mitad de cada una de las líneas se alimentó con una dieta distinta (dieta Control y dieta Alta Energía o High Energy = HE), hasta que alcanzaron las 16 semanas de edad que finalizó el ensayo. Las líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento (EB y GR) mostraron ritmos más rápidos de crecimiento que la línea de aptitud maternal HY. Esta superioridad de EB y GR resultó incrementada cuando eran alimentadas con una dieta energética. La línea EB presentó menor índice de transformación (IT) que la línea HY, mientras que el IT de la línea GR no fue distinto al de las otras dos líneas. Además el IT disminuyó con la dieta más energética.

Palabras clave: línea genética, dieta, crecimiento, eficiencia alimentaria.

Abstract

The aim of the current work is to search for a genetic line and a feed to produce rabbits with greater slaughter weight to obtain added-value products that open the door to new markets. To carry out the study, 2,294 rabbits were selected at 7 weeks of age (males and females, one from each litter) of three sire genetic lines (Ebro, Grimaud and Hyla), half of each line was fed with a different diet (diet C and High Energy diet), until they reached 16 weeks of age that finished the assay. The lines selected by growth rate (EB and GR) showed faster rates of growth than the maternal line HY. This superiority of EB and GR was increased when they were fed with an energy diet. The EB line presented lower feed conversion ratio (FCR) than the HY line, whereas the FCR of the GR line was not different from the other two lines. In addition, FCR decreased with high energy diet.

Keywords: genetic line, diet, growth, food efficiency.

Introducción

En la producción comercial de carne de conejo, los costes de alimentación representan alrededor del 70 % del total. Esto hace que el coste de la alimentación tenga una alta repercusión en el coste de producción. Así cuando el precio de la alimentación incrementa, los costes de producción superan el precio de venta de carne; y el sistema se vuelve inviable. Por tanto, uno de los principales objetivos en producción de carne de conejo es mejorar la eficiencia alimentaria o el índice de transformación de la dieta en carne. Para la elaboración de ciertos productos de valor añadido (como longaniza, hamburguesas, bandejas con piezas nobles troceadas) es nece-

sario obtener canales más pesadas de lo habitual, a pesar de que el índice de transformación va aumentando conforme aumenta la edad. En este sentido, el objetivo del presente trabajo es la búsqueda de una línea genética y una alimentación adecuada para producir canales de conejo con mayor peso al sacrificio para la obtención de productos alternativos que abran la puerta a nuevos mercados. Las líneas genéticas estudiadas fueron dos líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento (Grimaud y Ebro) y una seleccionada por prolificidad (Hyla), que fueron alimentadas con dos dietas, una dieta control y una dieta más energética.

Material y métodos

Se seleccionaron 2294 animales procedentes del cruzamiento de la hembra Hyla con machos terminales de tres líneas genéticas (Grimaud = GR, Ebro = EB e Hyla = HY). De noviembre de 2012 a marzo de 2013, los conejos fueron destetados a las 7 semanas de edad y transportados a jaulas individuales. Tras el destete se alimentaron con dos tipos de dieta cuya formulación viene indicada en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición nutricional de los dos tipos de dieta que utilizamos.

| Composición nutricional (%) | Dieta C | Dieta HE |
|--|---------|----------|
| Materia Seca | 89 | 89 |
| Proteína Bruta | 15 | 16 |
| Grasa Bruta | 2.5 | 3 |
| Fibra Bruta | 25 | 17 |
| Almidón | 811 | 12 |
| Fibra Ácido Detergente | 25 | 22 |
| Fibra Neutro Detergente | 40 | 35 |
| Cenizas | 11 | 11 |
| Energía Metabolizable (kcal/kg) | 2100 | 2400 |

C: dieta control. HE: dieta High Energy.

Cada conejo se pesó semanalmente desde su destete hasta su sacrificio. Además se pesó el pienso consumido por comedero que era compartido por 4 conejos de la misma línea genética, alimentados con la misma dieta, del mismo sexo y de la misma edad. A partir de estos datos se calculó la Ganancia Media Diaria o GMD y el Índice de Transformación o IT semanalmente entre 8 y 16 semanas de edad.

Los resultados fueron analizados con el procedimiento GLM (R Statistical, 2016), a partir del cual se obtuvieron las medias mínimo cuadráticas.

El modelo estadístico utilizado para la evolución del peso fue:

$$P_{ijklm} = \mu + LG_i + D_k + G_l + LG_i \times t_j + D_k \times t_j + G_l \times t_j + LG_i \times t_j^2 + D_k \times t_j^2 + G_l \times t_j^2 + LG_i \times D_k \times t_j + A_m + e_{ijklm}$$

Para el Índice de Transformación se utilizó el modelo:

$$I_{Tijklm} = \mu + LG_i \times t_j + G_l \times t_j + D_k \times t_j^2 + G_l \times t_j^2 + (C_m + C_m \times t_j + C_m \times t_j^2) + e_{ijklm}$$

Donde P_{ijklm} es el peso del animal m, perteneciente a la línea genética i, alimentado con la dieta k, del género l y a la edad j, LG es el efecto de la línea genética (EB, GR o HY), D es el efecto de la dieta (Control o HE), G es el género (hembra o macho), A es el animal, C es el comedero compartido por cuatro conejos, GLxD es la interacción línea genética y dieta, y e_{ijkl} es el error.

Resultados y discusión

En la evolución del peso, apareció una interacción entre línea genética y dieta para la (Figura 1), por tanto el efecto de la dieta depende del potencial para crecimiento de cada línea. Así las líneas GR y EB aumentaron su

ritmo de crecimiento cuando se alimentan con la dieta HE, mientras que no sucede lo mismo con la línea HY. Para ambas dietas, las líneas genéticas mejoradas por velocidad de crecimiento (EB y GR) presentaron mayor peso respecto a la línea seleccionada por aptitud maternal (HY), pero no existieron diferencias significativas entre EB y GR.

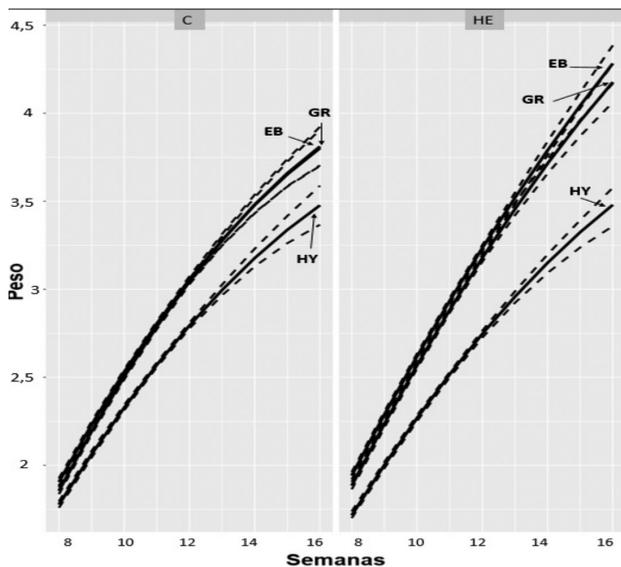


Figura 1. Evolución del peso en función de la edad (semanas) según la línea genética.
EB: Ebro. GR: Grimaud. HY: Hyla.

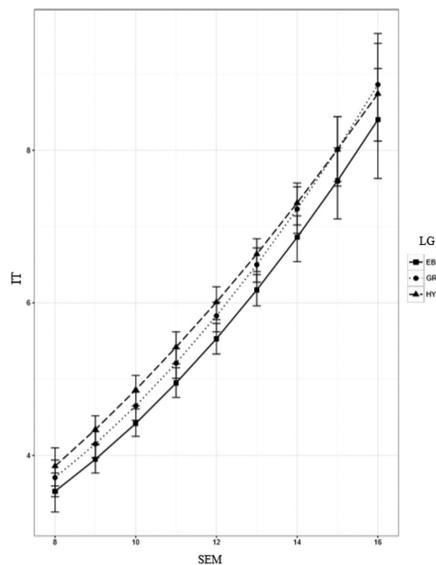


Figura 2. Medias mínimo cuadráticas y errores estándares para la evolución del índice de transformación (IT) según la línea genética.
EB: Ebro. GR: Grimaud. HY: Hyla.

Dalle Zotte *et al.* (2015) encontraron diferencias significativas según el genotipo para la semana 12 en el crecimiento de conejos usando líneas mejoradas por ganancia media diaria (Large: 3109 g) y líneas mejoradas por rendimiento (Hung: 2881 g). También, Szendrő *et al.* (2015) encontraron diferencias en la velocidad de crecimiento entre dos genotipos seleccionados por en el crecimiento sacrificados entre 5 y 12 semanas.

Respecto al IT (**Figura 2**), en la semana 11 y 12 la línea de aptitud maternal (HY) es diferente de la línea mejorada por crecimiento (EB). La línea GR se posicionó en valores intermedios, no siendo diferente a EB e HY.

Tumová *et al.* (2013) tampoco encontraron diferencias significativas según la raza en el índice de conversión en el estudio del crecimiento en conejos autóctonos de la República Checa (Botucatu) comparados con líneas híbridas comerciales sacrificados con 90 días.

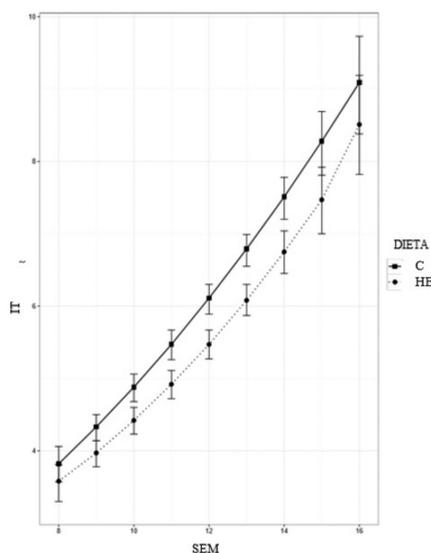


Figura 3. Medias mínimo cuadráticas y errores estándares de la media del índice de transformación (IT) según la dieta.
C: dieta control. HE: dieta altamente energética.

De la semana 10 a la 14 incluidas, el IT presenta diferencias significativas según la dieta (**Figura 3**), siendo para la dieta más energética menor. Pascual et al. (2014) no encontraron diferencias en el IT desde los 42 a los 90 días para conejos alimentados con diferentes cantidades de fibra.

En conclusión las líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento (EB y GR), como era de esperar, mostraron ritmos de crecimiento más rápidos que la línea de aptitud maternal HY. Esta superioridad de EB y GR resultó incrementada cuando eran alimentadas con una dieta energética. La línea EB presentó menor IT que la línea HY, mientras que el IT de la línea GR no fue distinto al de las otras dos líneas. Además el IT disminuyó con la dieta más energética.

Agradecimientos

La realización del presente trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico del proyecto CDTI (IDI-20120024) "Introducción de nuevos parámetros productivos en explotación cunícola para la obtención de productos de alto valor añadido" y al apoyo técnico de la empresa QUIN s.l.

Bibliografía

Dalle Zotte, A., Szendrő K., Gerencsér Zs., Szendrő Zs., Cullere M., Odermatt M., Radnai I., Matics Zs. 2015. Effect of genotype, housing system and hay supplementation on carcass traits and meat quality of growing rabbits. *Meat Science*, 110: 126-134.

Pascual M., Soler M.D., Cervera C., Pla M., Pascual J.J., Blas E. 2014. Feeding programmes based on highly-digestible fibre weaning diets: Effects of health, growth performance and carcass and meat quality in rabbits. *Livestock Science*, 169: 88-95.

R Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R 400 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <https://www.R401 project.org/>.

Szendrő K., Szendrő Zs., Matics Zs., Dalle Zotte A., Odermatt M., Radnai I., Odermatt M. 2015. Effect of genotype, housing system and hay supplementation on performance and ear lesions of growing rabbits. *Livestock Science*, 174: 105-112.

Tumová E., Martinec M., Volek Z., Härtlová H., Chodová D., Bízková Z. 2013. A study of growth and some blood parameters in Czech rabbits. *World Rabbit Science*, 21: 251-256.

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

- Determinación de las necesidades de treonina en conejos de engorde a partir del nivel de nitrógeno ureico plasmático

Marín-García P.J., Martínez-Paredes E.M., Ródenas L., López M.C., Arnau-Bonachera A., Blas E., Pascual J.J.

- Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre el rendimiento de conejas primíparas y sus camadas hasta el segundo parto

Farias C., Noboa T., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., Nicodemus N., García J.

- Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre la digestibilidad fecal y la condición corporal de conejas nulíparas hasta el segundo parto

Noboa T., Farias C., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., García J., Nicodemus N.

- Efeito da incorporaco de palha de feijão frade (*Vigna unguiculata*) não tratada ou tratada com fungos (*Pleurotus citrinopileatus*) na dieta de coelhos em crescimento sobre as performances e digestibilidade

Andrade E., Pinheiro V., Gonçalves A., Marques Guilhermina G., Silva V., Martins J.J., Ferreira L., Rodrigues M.

- Efecto del nivel de restricción alimentaria y la densidad animal sobre los rendimientos productivos y de la canal en conejos en crecimiento

Medina J.A., García-Ruiz A.I., Marco M., Terreros E., Fernández-Schwarz B., Alfonso C., Saiz A.

- Performances e digestibilidade de coelhos na engorda sujeitos a uma restrico de gua

Pinheiro V., Gonçalves J., Monteiro D., Mourão J.L.

Determinación de las necesidades de treonina en conejos de engorde a partir del nivel de nitrógeno ureico plasmático

Determination of threonine requirements for growing rabbits using plasma urea nitrogen level

Marín-García P.J.^{*}, Martínez-Paredes E.M., Ródenas L., López M.C., Arnau-Bonachera A., Blas E., Pascual J.J.

Instituto Universitario de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, España

^{*} Dirección de contacto: pabmarg2@upv.es

Resumen

El contenido proteico de los piensos de engorde se ha reducido para minimizar los riesgos de trastornos digestivos. Por lo que resulta crucial un correcto ajuste aminoacídico del pienso, especialmente de los principales aminoácidos limitantes (lisina, azufrados y treonina), siendo la treonina la menos estudiada de todos ellos. El presente trabajo trató de evaluar cuáles son los niveles de treonina adecuados en conejos de engorde, utilizando el nivel nitrógeno ureico plasmático (PUN) y las recomendaciones actuales para la lisina y azufrados (7.3 y 5.2 g/kg, respectivamente). Se formularon tres piensos donde únicamente se modificó el contenido en treonina: uno siguiendo las recomendaciones actuales (6.2 g/kg), otros dos con un 15% menos o más (5.3 y 7.1 g/kg, respectivamente). Se utilizaron 99 conejos (33 por pienso) donde se analizó el PUN a partir de una muestra a las 08:00h (bajo una alimentación *ad libitum*) y otra a las 21:00h (3 h después de restaurar el pienso tras una restricción alimenticia de 10h). No se observaron diferencias en el nivel de PUN de los animales a las 08:00h ($P > 0.05$) independientemente del pienso ofrecido, posiblemente asociado a una interacción con la cecotrofia. Sin embargo, a las 21:00h los niveles de PUN de aquellos animales alimentados con altos niveles de treonina fueron significativamente menores que aquellos alimentados con niveles bajos y medios (-1.60 ± 0.80 y -2.81 ± 0.80 mg/dL, respectivamente; $P < 0.01$). Aunque se deberán de realizar más estudios para confirmarlo, estos resultados podrían estar indicando unas necesidades de treonina para conejos de engorde superiores a las actuales, cuando las cantidades de lisina y azufrados del pienso presentan valores medios.

Palabras clave: Conejos de engorde, nitrógeno ureico plasmático, treonina, aminoácido.

Abstract

The protein content in growing rabbits' diets has been reduced to minimize digestive disorders. In this context it is necessary to adjust amino acid profile, especially those limiting-amino acids (lysine, methionine and threonine). Of all of them, threonine (tre) is the least studied. This work evaluated the levels of threonine suitable in growing rabbits using plasmatic urea nitrogen level (PUN). Three experimental diets were formulated, all of them, using the current recommendations for lysine (lys) and sulphure amino acids (saa). For this diet, tre content was introduced at 6.2 g/kg (MMX) or by 15% more or less (MMH; 7.2g/kg or MML; 5.33g/kg), A total of 99 rabbits (33 per feed) were used. PUN was analyzed from a samples obtained at 08:00h (under *ad libitum* feeding) and at 21:00h (3h after refeeding after a fasting). Average PUN level was the same ($P < 0.05$) at 08:00h, it could be by the cecotrophy. On the other hand, at 21:00h PUN level of animals that were fed using high levels of tre was lower. Although more studies are necessary, this results could show that threonine requirements for growing rabbits are higher than actually recommendations, when current recommendations of lysine and sulphur amino acids are used.

Keywords: Growing rabbits, plasma urea nitrogen, threonine, amino acid.

Introducción

Con el objetivo de mejorar el índice de conversión, uno de los factores de mayor peso económico en la producción cunícola (Cartuche *et al.*, 2014), es conveniente aportar en el pienso niveles de proteína y aminoácidos

necesarios para que los animales muestren todo su potencial. Sin embargo, los niveles proteicos de los piensos de engorde se han reducido en los últimos años (Carabaño *et al.*, 2009), como consecuencia de la irrupción de la enteropatía mucoide, cuya incidencia suele verse potenciada con el aumento del flujo de nitrógeno ileal (de Blas *et al.*, 2007).

Marín-García *et al.* (2016) observaron que los conejos con altas ganancias medias diarias (>50 g/día) retenían menos proteína de la esperada (en función de su crecimiento). Esta menor retención podría indicar que los niveles proteicos de los piensos actuales podrían no ser suficientes para cubrir las necesidades de estos animales, debido posiblemente a la existencia de algún aminoácido limitante. En conejos los aminoácidos esenciales típicamente limitantes son, por este orden, los azufrados (metionina y/o cistina), lisina y treonina. Al ser el tercer limitante, la treonina ha sido menos estudiada (de Blas *et al.*, 1998), resultando de especial interés desarrollar trabajos que permitan ajustar mejor las necesidades de este aminoácido.

Marín García (2016) mostró que el nitrógeno ureico plasmático (del inglés PUN), correspondiente con la cantidad de nitrógeno en forma de urea circulante por el torrente sanguíneo, tiene potencial como indicador de posibles desequilibrios aminoacídicos en los piensos de conejos de engorde (mostrando los piensos equilibrados valores menores de PUN). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar cómo se ven afectados los niveles de PUN en conejos de engorde, cuando variamos los niveles de treonina manteniendo los niveles recomendados para los aminoácidos azufrados y lisina.

Material y métodos

Se formularon 3 piensos experimentales a partir de la misma mezcla base [14.1% proteína bruta, 2140 kcal energía digestible/kg, 7.3 g/kg lisina y 5.2 g/kg de metionina+cistina; recomendaciones actuales (de Blas y González-Mateos, 2010)], en la que únicamente se modificó la cantidad de treonina, presentando niveles Medio (6.2 g/kg; recomendaciones actuales), Bajo (5.3 g/kg ; 15% menos) y Alto (7.1 g/kg; 15% más).

Un total de 99 animales fueron utilizados (33 por pienso). A los 28 días de edad fueron destetados, pesados y alojados en jaulas colectivas (n=8) alimentándose del pienso Medio hasta el día 47 cuando a cada jaula se le asignó un pienso experimental diferente. La extracción de muestras sanguíneas se hizo siguiendo las recomendaciones de Marín-García (2016) para la determinación del PUN en conejos de engorde. Tras un día de adaptación siguiendo una alimentación *ad libitum*, se produjo la primera extracción de sangre (08:00h). A continuación, se produjo una restricción alimenticia de 10 horas (hasta las 18:00h) y, tras tres horas desde el restablecimiento de la alimentación *ad libitum*, se produjo la segunda extracción (21:00h). Tras la última extracción, se ofrecía nuevamente el pienso Medio hasta el día 63, donde los animales volvían a ser pesados para calcular la ganancia media diaria entre el día 28 y 63.

Las muestras de sangre fueron inmediatamente centrifugadas 5 min a 2500 rpm recuperando el plasma sobrenadante. La determinación del PUN fue realizada usando un kit comercial para analizar la urea plasmática (Urea/BUN-COLOR; BioSystems S.A., Barcelona, España).

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el paquete estadístico SAS (2009). Incluyendo los efectos fijos tanda (momento de extracción), hora, así como sus interacciones, y la ganancia media diaria como covariable.

Resultados y discusión

En la **Tabla 1** se recogen los efectos del nivel de treonina y la hora de extracción sobre los valores medios de PUN. Como se puede contemplar no existe un efecto significativo del nivel de treonina sobre el PUN ($P > 0.05$). Sin embargo, sí se observa un claro efecto de la hora de extracción, obteniéndose valores menores a las 08:00h *ad libitum* que a las 21:00h tras restricción (-6.86 ± 0.38 mg/dL; $P < 0.001$). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Marín-García (2016) en estos mismos periodos y bajo el mismo manejo alimenticio, y relacionados con la mayor ingestión de pienso de los conejos a última hora de la tarde respecto a las primeras horas de la mañana.

Tabla 1. Efecto de la treonina (Bajo, 5.3 g/kg; Medio, 6.2g/kg; Alto, 7.1 g/kg) y de la hora de extracción en el nivel de PUN (mg/dL) a 48 días de edad de conejos de engorde.

| | | PUN (mg/dL) | P-valor |
|--------------------|-------|-------------|---------|
| Treonina | Bajo | 14.10±0.46 | 0.1427 |
| | Medio | 15.12±0.46 | |
| | Alto | 13.94±0.47 | |
| Hora de extracción | 08:00 | 10.95±0.33 | 0.0001 |
| | 21:00 | 17.81±0.33 | |
| Treonina*Hora | | | 0.0014 |

A pesar de no observarse diferencias significativas en función del nivel de treonina, sí se aprecian diferencias en la interacción treonina*hora de extracción, por lo que resulta interesante el estudio pormenorizado de la misma en la **Figura 1**. En dicha figura se observa la ausencia de diferencias en los valores de PUN entre los tres niveles de treonina a las 08:00h. Sin embargo, en el caso de las 21:00h aparecen niveles menores de PUN cuando los animales son alimentados con niveles de treonina altos que cuando son alimentados con niveles bajos (-1.60 ± 0.80 mg/dL; $P<0.05$) o medios (-2.81 ± 0.80 mg/dL; $P<0.001$).

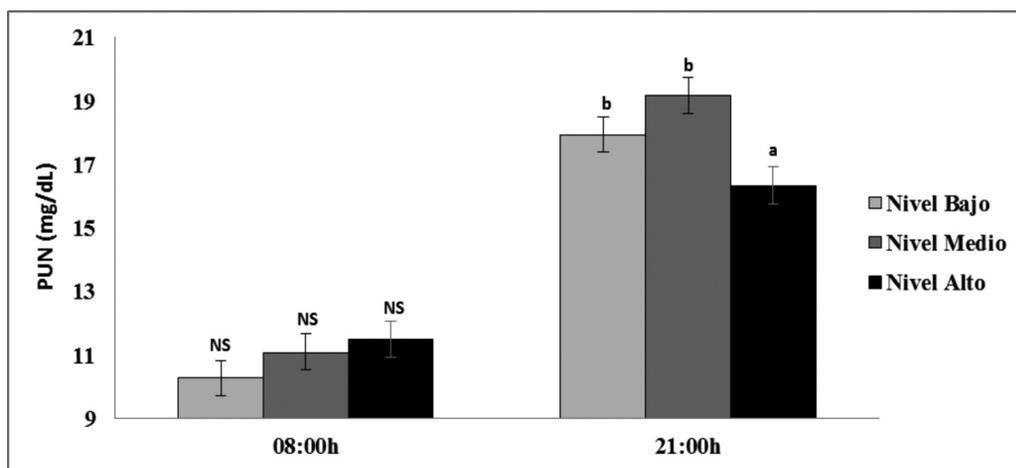


Figura 1. Niveles de PUN (mg/dL) en función del momento de extracción (08:00 y 21:00) y los niveles de Treonina del pienso (Bajo, Medio y Alto). Barras para un mismo periodo que no comparten letra son diferentes significativamente ($P<0.05$).

El método utilizado a las 21:00, está dirigido a maximizar y fomentar la homogeneidad de la ingestión de los animales. En estas condiciones, la disminución en los niveles de PUN cuando los animales son alimentados con piensos con niveles altos de treonina podría indicar que cuando los animales maximizan su ingestión requieren de un mayor aporte de este aminoácido (o alguno sintetizado a partir de éste) para optimizar la síntesis proteica. Estos requerimientos son diferentes (15% mayores) a los obtenidos por de Blas *et al.* (1998) como óptimos para el crecimiento. Estas diferencias pueden quizás deberse al mayor crecimiento diario de los animales en el presente experimento (25% mayor), al diferente contenido en lisina y azufrados (8.1 y 6.6 g/kg, respectivamente) del pienso experimental utilizado por de Blas *et al.* (1998), o por el efecto de la maximización de la ingestión.

Por el contrario, la falta de diferencias significativas a las 08:00h ($P>0.05$) podría indicar una menor dependencia del nivel de treonina del pienso a estas horas (o aminoácidos provenientes de ella). Una posible explicación reside en el papel de la cecotrofia, ya que proporcionalmente suelen haber mayores niveles de treonina, tanto en la proteína endógena de aquellos animales que practican la cecotrofia (García *et al.*, 2001), como en los cecotrofos (Carabaño *et al.*, 2000).

Conclusiones

Se puede concluir que, cuando se maximiza la ingestión de pienso en conejos de engorde se minimiza el nivel de PUN cuando el pienso tiene un nivel de treonina un 15% por encima de las actuales recomendaciones. Aunque debemos hacer más estudios para confirmarlo, estos resultados podrían estar indicando unas necesidades de treonina para conejos de engorde superiores a las actuales cuando los niveles de lisina y metionina son los recomendados.

Agradecimientos

Este estudio ha sido apoyado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CICYT) del Gobierno de España (AGL2014-53405-C2-1-P). También se agradece la beca concedida a Pablo Jesús Marín García del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU-2014-01203).

Bibliografía

- de Blas C., Astillero R., Chamorro S., Corujo A., García-Alonso J., García-Rebollar P., García-Ruiz I., Menoyo D., Nicodemus N., Romero C., Carabaño R. 2007. Efectos de la nutrición y el manejo sobre el desarrollo de patologías digestivas de gazapos en un entorno de enteropatía epizoótica. XXIII Curso de especialización FEDNA, Madrid.
- de Blas J.C., Gonzalez-Mateos G. 2010. Feed Formulation. En: de Blas C., Wiseman J. (eds). *Nutrition of the Rabbit*. CABI Publishing, CAB International, Wallingford Oxon, UK, 222-232.
- de Blas C., Taboada E., Nicodemus N., Campos R., Piquer J., Méndez, J. 1998. Performance response of lactating and growing rabbits to dietary threonine content. *Animal Feed Science and Technology*, 70: 151-160.
- Carabaño R., de Blas C., García A.I. 2000. Recent advances in nitrogen nutrition in rabbits. 7th World Rabbit Congress. Valencia, España. *World Rabbit Science*, 8, Suppl., 15-28.
- 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 Science*, 17: 1-14.
- Cartuche L., Pascual M., Gómez E.A., Blasco A. 2014. Economic weights in rabbit meat production. *World Rabbit Science*, 22: 165-177.
- García A.I., Espinosa A., de Blas C., Carabaño R. 2001. Effect of caecotrophs on the composition of protein and amino acids in endogenous nitrogen in rabbits. ITEA, Zaragoza, Spain.
- Marín-García P.J., Blas E., Cervera C., Pascual J.J. 2016. A deficient protein supply could be affecting selection for growth rate in rabbits. *Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*. Belfast, UK.
- Marín-García P.J. 2016. El nitrógeno ureico plasmático como indicador de desequilibrio en aminoácidos en los piensos de conejos. XXXII Curso FEDNA. Madrid, España.

Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre el rendimiento de conejas primíparas y sus camadas hasta el segundo parto

Effect of level of soluble fibre and insoluble fibre level on the performance of rabbit does and their litters until the second parturition

Farias C., Noboa T., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., Nicodemus N., García J.*

Departamento de Producción Animal, ETSIA, Universidad Politécnica de Madrid

* Dirección de contacto: javier.garcia@upm.es

Resumen

En el presente trabajo se estudió si el efecto del nivel de fibra soluble (FS) sobre los rendimientos de las conejas reproductoras y sus camadas depende del nivel de fibra insoluble (FI). Para ello se utilizó un diseño factorial 2×2 con dos niveles de (FI) (33,5 vs. 42,0% FND, sobre MS) y dos niveles de fibra soluble (FS) (6,8 vs. 11,8 % MS) dando lugar a cuatro piensos: bajo en FI y bajo en FS, bajo en FI y alto en FS, alto en FI y bajo en FS y alto en FI y en FS. La prueba se realizó con 96 conejas nulíparas (24/tratamiento). Los niveles de fibra soluble o insoluble administrados no afectaron al número de gazapos nacidos vivos por camada (12,4 gazapos/camada de media; $P \geq 0,43$). Sin embargo, al destete (25 d), las conejas alimentadas con mayor nivel de fibra soluble tuvieron 0,82 gazapos más por camada que aquellas que recibieron los piensos con menor nivel de fibra soluble ($P \leq 0,017$), sin afectar al peso de las mismas. Por otro lado, las camadas de las conejas que recibieron los piensos con mayor contenido en fibra insoluble pesaron un 9% más al destete que las que recibieron el pienso con menor nivel de fibra insoluble ($P = 0,013$). Estos resultados implicaron que el peso individual medio de los gazapos al destete aumentó con el nivel de fibra insoluble, y disminuyó con el nivel de fibra soluble del pienso ($P \leq 0,022$).

Palabras clave: fibra soluble, fibra insoluble, conejas reproductoras.

Abstract

The aim of this work was to study whether the effect of dietary level of soluble fibre (SF) on performance of rabbit does and their litters depends on the level of insoluble fibre (IF). To this end diets were formulated according to a 2×2 factorial design with two levels of IF (33.5 vs. 42.0% NDF, on DM basis) and two levels of SF (6.8 vs. 11.8 % DM). The four diets, low in IF and SF, low in IF and high in SF, high in SF and low in IF, and high in SF and IF were fed to 96 nulliparous does (24/diet). The level of insoluble and soluble fibre did not influence the number of kits born alive (12.4 kits/litter; $P \geq 0.43$). However, the increase of soluble fibre improved the number of kits at weaning (25 d), obtaining 0.8 kits more per litter than those fed the low soluble fibre diets ($P \leq 0.017$), with no effect on the litter weight at weaning. Litters from does fed with the high level of insoluble fibre were heavier at weaning (by 9%, $P = 0.013$). These results implied that the average mean kit weight at weaning increased with the level of insoluble fibre and decreased with the level of soluble fibre ($P \leq 0.022$).

Keywords: soluble fibre, insoluble fibre, rabbit does.

Introducción

El incremento del nivel de fibra soluble en piensos con niveles moderados de fibra insoluble modifica el perfil microbiano de las heces y de la leche de las conejas, no modifica su condición corporal y reduce su tasa de eliminación al comienzo de su carrera reproductiva (Delgado *et al.*, 2015 y datos no publicados). Sin embargo, cuando se aumenta el nivel de fibra soluble en piensos con un elevado contenido en fibra insoluble empeora el balance energético de la coneja y el rendimiento de la camada al destete (Martínez-Vallespín *et al.*, 2011). Por tanto, resulta de interés estudiar si los efectos observados de la inclusión de fibra soluble dependen del nivel de fibra insoluble del pienso.

Materiales y métodos

Se diseñaron 4 tratamientos organizados factorialmente (2×2), con dos niveles de fibra insoluble (FI) (33,5 vs. 42,0% MS) y dos niveles de fibra soluble (FS) (6,8 vs. 11,8 % MS) (**Tabla 1**). De este modo se obtuvieron 4 piensos: bajo en FI y bajo en FS (BFIns/BFSol), bajo en FI y alto en FS (BFIns/AFSol), alto en FI y bajo en FS (AFIns/BFSol) y alto en FI y en FS (AFIns/AFSol). Los niveles de PB fueron del 18,8% MS, mientras que el nivel de almidón fue superior en los piensos con bajo contenido en fibra insoluble. Los piensos con mayor nivel de fibra insoluble se suplementaron con grasa para equilibrar su contenido en energía digestible. Para llevar a cabo la prueba, se utilizaron 96 conejas nulíparas Neozelandés blanco × California que se inseminaron a los 130 días de edad con un peso medio de 3,91 ± 0,38 kg. Las conejas fueron asignadas al azar a los piensos experimentales (24/tratamiento) el día de la primera inseminación artificial. Tras el parto, se hicieron adopciones entre los gazapos de las conejas pertenecientes a un mismo tratamiento, de manera que las camadas se igualaron de media a 12,1 ± 1,35 gazapos. Las conejas estuvieron restringidas (150 g de pienso/día) en el caso de no haber quedado gestantes en la cubrición anterior, mientras que en el resto de periodos tuvieron acceso *ad libitum* al pienso. Los datos procedentes del ensayo de lactación se analizaron mediante un modelo mixto de medidas repetidas que incluyó como factores fijos el nivel de fibra insoluble, el nivel de fibra soluble, el número de parto de la coneja (factor de

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales.

| Ítem | BFIns/BFSol | BFIns/AFSol | AFIns/BFSol | AFIns/AFSol |
|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>Ingredientes %</i> | | | | |
| Cebada | 15,0 | 14,1 | 7,0 | 5,64 |
| Trigo | 15,0 | 14,1 | 7,0 | 5,64 |
| Pulpa de remolacha | 0,0 | 17,0 | 0,0 | 17,0 |
| Paja | 12,0 | 9,0 | 24,19 | 20,24 |
| Alfalfa deshidratada | 10,18 | 10,18 | 15,39 | 15,4 |
| Gluten feed | 9,0 | 3,0 | 7,1 | 2,0 |
| Salvado | 17,0 | 6,0 | 13,5 | 4,0 |
| Torta de girasol | 12,0 | 17,1 | 13,0 | 17,5 |
| Torta de soja | 6,0 | 6,0 | 6,0 | 6,0 |
| Manteca | 0,0 | 0,0 | 3,5 | 3,5 |
| Melaza de caña | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| L-Lisina 50 | 0,30 | 0,26 | 0,28 | 0,22 |
| Alimet | 0,05 | 0,06 | 0,07 | 0,08 |
| L-Treonina | 0,10 | 0,08 | 0,1 | 0,06 |
| L-triptófano | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Cloruro de sodio | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Carbonato cálcico | 1,6 | 0,8 | 1,0 | 0,4 |
| Fosfato cálcico | 0,35 | 0,9 | 0,45 | 0,9 |
| Corrector vitamínico-mineral | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| <i>Composición química,% MS</i> | | | | |
| Materia seca | 90,4 | 90,6 | 90,9 | 90,8 |
| Proteína bruta | 19,5 | 19,4 | 18,3 | 18,1 |
| Fibra dietética total | 40,9 | 45,2 | 48,7 | 53,5 |
| FND | 33,5 | 33,6 | 42,5 | 41,5 |
| FAD | 16,2 | 17,9 | 23,0 | 24,7 |
| LAD | 3,66 | 3,83 | 6,64 | 6,52 |
| Fibra soluble | 7,4 | 11,6 | 6,2 | 12,0 |
| Almidón | 21,1 | 18,2 | 11,5 | 8,10 |

repetición) y las interacciones entre estos factores, mientras que la coneja se consideró como un efecto aleatorio. La fertilidad fue analizada mediante una regresión logística (procedimiento GENMOD de SAS, considerando una distribución binomial), incluyendo en el modelo las mismas variables.

Resultados y discusión

A continuación se presentan los primeros resultados obtenidos. Los niveles de fibra soluble o insoluble administrados no afectaron al número de gazapos nacidos vivos por camada (12,4 gazapos/camada de media; $P \geq 0.43$), ni al número de gazapos tras la homogeneización de las camadas. Sin embargo, tanto a los 20 d de lactación como al destete (25 d), las conejas alimentadas con mayor nivel de fibra soluble tuvieron 0,65 y 0,82 gazapos más por camada, respectivamente, que aquellas que recibieron los piensos con menor nivel de fibra soluble ($P \leq 0,017$), sin afectar al peso de las mismas. Este es un resultado inesperado y que difiere de lo observado por Martínez-Vallespín *et al.* (2011) y Delgado *et al.* (2014 y otros datos no publicados). Por otro lado, el

Tabla 2. Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre los rendimientos productivos de conejas reproductoras hasta el segundo parto.

| | Piensos | | | | Parto | | EEM | | | P-valor | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|-------|------------|-------|-------|---------|--------|-------|--------|
| | BFIns BFSol | BFIns AFSol | AFIns BFSol | AFIns AFSol | 1 | 2 | FI y FS | FIxFS | Parto | IF | SF | FIxFS | Parto |
| N | 24 | 24 | 24 | 24 | 96 | 88 | | | | | | | |
| <i>N^a gazapos por camada</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Nacidos totales | 12,9 | 13,3 | 12,8 | 13,3 | 12,2 | 13,9 | 0,37 | 0,52 | 0,34 | 0,99 | 0,43 | 0,93 | 0,002 |
| Nacidos vivos | 12,3 | 12,3 | 12,4 | 12,6 | 11,5 | 13,3 | 0,37 | 0,53 | 0,35 | 0,65 | 0,84 | 0,86 | <0,001 |
| Nacidos muertos | 0,62 | 0,98 | 0,41 | 0,68 | 0,85 | 0,49 | 0,18 | 0,25 | 0,16 | 0,30 | 0,21 | 0,86 | 0,085 |
| Inicial (tras homogeneizar) | 12,4 | 12,1 | 12,2 | 12,4 | 11,5 | 13,0 | 0,12 | 0,17 | 0,12 | 0,88 | 0,91 | 0,20 | <0,001 |
| 20 d | 9,70 | 10,5 | 10,0 | 10,8 | 10,2 | - | 0,21 | 0,29 | 0,15 | 0,28 | 0,017 | 0,91 | - |
| 25 d (destete) | 9,65 | 10,4 | 10,0 | 10,7 | 10,2 | - | 0,20 | 0,28 | 0,14 | 0,31 | 0,005 | 0,97 | - |
| <i>Peso de la camada, kg</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Nacimiento | 0,621 | 0,637 | 0,645 | 0,644 | 0,561 | 0,713 | 0,014 | 0,020 | 0,013 | 0,45 | 0,71 | 0,68 | <0,001 |
| Inicial (tras homogeneizar) | 0,682 | 0,640 | 0,670 | 0,688 | 0,577 | 0,762 | 0,015 | 0,022 | 0,014 | 0,41 | 0,58 | 0,17 | <0,001 |
| 20 d | 2,595 | 2,531 | 2,696 | 2,752 | 2,643 | - | 0,059 | 0,084 | 0,042 | 0,056 | 0,96 | 0,48 | - |
| 25 d (destete) | 3,384 | 3,211 | 3,565 | 3,627 | 3,447 | - | 0,083 | 0,12 | 0,059 | 0,013 | 0,63 | 0,32 | - |
| <i>Peso gazapos, g</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Nacimiento | 51,6 | 51,2 | 52,9 | 51,6 | 49,9 | 53,73 | 0,76 | 1,08 | 0,75 | 0,43 | 0,44 | 0,73 | <0,001 |
| Tras homogeneizar | 54,6 | 52,7 | 54,7 | 55,4 | 50,2 | 58,4 | 1,16 | 1,64 | 1,06 | 0,41 | 0,70 | 0,42 | <0,001 |
| 20 d | 270 | 243 | 272 | 256 | 260 | - | 4,18 | 5,91 | 2,96 | 0,21 | <0,001 | 0,35 | - |
| 25 d (destete) | 353 | 307 | 362 | 337 | 340 | - | 5,88 | 8,31 | 4,16 | 0,022 | <0,001 | 0,22 | - |
| Eficiencia alimenticia ³ | 0,252 | 0,259 | 0,250 | 0,251 | - | - | 0,005 | 0,005 | - | 0,53 | 0,61 | 0,74 | - |
| Fertilidad | 93,5 | 87,5 | 84,1 | 93,5 | 100 | 78,4 | - | - | - | 0,79 | 0,79 | 0,087 | <0,001 |

¹kg destetados/kg consumidos coneja+camada.

nivel de fibra insoluble tuvo efecto sobre el peso de las camadas a los 20 y 25 d de edad. Así las camadas de las conejas que recibieron los piensos con mayor contenido en fibra insoluble pesaron un 9% más al destete que las que recibieron el pienso con menor nivel de fibra insoluble, independientemente del nivel de fibra soluble del pienso ($P = 0,013$). Esto podría estar relacionado con una mayor producción de leche debido al mayor nivel de grasa de los piensos con mayor nivel de fibra insoluble (Pascual *et al.*, 2003). Estos resultados implicaron que el peso individual medio de los gazapos al destete aumente con el nivel de fibra insoluble, y disminuya con el nivel de fibra soluble del pienso ($P \leq 0,022$).

En el segundo parto las conejas tuvieron 1,7 gazapos nacidos totales más que en el primer parto ($P = 0,002$), incrementándose el número de nacidos vivos por camada en 1,8 gazapos ($P < 0,001$) ya que el número de muertos tendió a disminuir en 0,36 gazapos ($P = 0,085$), lo cual dio lugar a que tras la homogeneización las camadas presentaran 1,5 más ($P < 0,001$) respecto al primer parto. Debido al mayor tamaño de las camadas, su peso aumentó con el número de parto un 24,3 % una vez fueron homogeneizadas ($P < 0,001$) teniendo los gazapos un 14,0 % más de peso ($P < 0,001$). Estos resultados productivos son superiores a los obtenidos recientemente por Delgado et al. (2017).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto AGL2015-66485-R. Agradecemos a Pilar Cachaldora (COREN) la fabricación de los piensos experimentales.

Bibliografía

Delgado R., Abad-Guamán R., Nicodemus N., Villamide M.J., Ruíz N., Menoyo D., Carabaño R., García J. 2014. Efecto del nivel de fibra soluble y del nivel de ácidos grasos w_3 sobre el rendimiento de las conejas y sus camadas durante las dos primeras lactaciones. XXXIX Symposium de Cunicultura. pp. 82-85. Tudela.

Delgado R., Badiola I., Abad-Guamán R., Nicodemus N., Villamide M.J., Pérez de Rozas A., Menoyo D., Carabaño R., García J. 2015. Efecto del nivel de fibra soluble y de la relación omega-6/omega-3 sobre la colonización microbiana en gazapos lactantes. XL Symposium de Cunicultura. pp 61-65. Santiago de Compostela.

Delgado R., Abad-Guamán R., de la Mata D., 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. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.02.015>

Martínez-Vallespín B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Pascual J.J., Blas E. 2011. Combined feeding of rabbit female and Young: partial replacement of starch with acid detergent fibre or/and neutral detergent soluble fibre at two protein levels. Livest. Sci., 141: 155-165. doi 10.1016/j.livsci.2011.05.014.

Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J. 2003. High-energy diets for reproductive rabbit does: effect of energy source. Nutr. Abstr. Rev., 73: 27-39.

Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre la digestibilidad fecal y la condición corporal de conejas nulíparas hasta el segundo parto

Effect of level of soluble fibre and insoluble fibre level on the faecal digestibility and body condition of nulliparous rabbit does until the second parturition

Noboa T., Farias C., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., García J., Nicodemus N.*

Dpto. Producción Agraria, ETSI Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid

* Dirección de contacto: nuria.nicodemus@upm.es

Resumen

En este trabajo se estudió si el efecto del nivel de fibra soluble (FSol) sobre la digestibilidad y condición corporal de las conejas reproductoras hasta el segundo parto depende del nivel de fibra insoluble (FIns). Para ello, se utilizó un diseño factorial 2×2 con dos niveles de FIns (33,5 vs. 42,0% FND, sobre MS) y dos niveles de FSol (6,8 vs. 11,8 % MS) dando lugar a cuatro piensos. La condición corporal se determinó en 96 conejas nulíparas (24/tratamiento) mediante la técnica de impedancia bioeléctrica (BIA) en el día de la inseminación, un día antes del parto (pre-parto), inmediatamente tras el parto y al destete (25 d). Para la prueba de digestibilidad se utilizaron 32 conejas durante su primera gestación (16/tratamiento). El consumo de las conejas aumentó un 13% ($P = 0,036$) al aumentar el nivel de FIns debido a que la digestibilidad fecal de la MS y energía se redujo un 12% y la de la proteína un 2% ($P \leq 0,023$). El incremento del nivel de FSol aumentó la digestibilidad fecal de la MS y energía en un 5% ($P < 0,001$). El ratio PBd/ED aumentó con el nivel de FIns y se redujo con el nivel de FSol (especialmente entre los piensos AFIns y AFSol. $P < 0,001$). El incremento del nivel de FSol aumentó el nivel de grasa y energía corporal y redujo el contenido de agua corporal el día 29 de la primera gestación (pre-parto), efecto que se observó de manera más marcada con el nivel más bajo de FIns ($P \leq 0,066$). Sin embargo, no se observó ninguna diferencia entre tratamientos tras el parto. En el destete, el contenido en proteína tendió a ser menor en los animales que recibieron los piensos BFIns/AFSol y AFIns/BFSol con respecto a aquellas alimentadas con los piensos BFIns/BFSol y AFIns/AFSol ($P = 0,054$), sin observarse ningún efecto en el nivel de grasa.

Palabras clave: fibra insoluble, fibra soluble, digestibilidad, condición corporal, conejas reproductoras.

Abstract

The aim of this work was to study whether the effect of dietary level of soluble fibre (SF) on digestibility and the evolution of body composition of rabbit does until the second parturition depends on the level of insoluble fibre (IF). To this end diets were formulated according to a 2×2 factorial design with two levels of IF (33.5 vs. 42.0% NDF, on DM basis) and two levels of SF (6.8 vs. 11.8 % DM). The four diets were fed to 96 nulliparous does (24/diet) that were used to determine body composition by bioelectrical impedance analysis (BIA) at artificial insemination, pre-partum, post-partum and weaning (25 d). In the digestibility trial were used 32 rabbits does in their first pregnancy (16/diet). Feed intake increased by 13% ($P = 0.036$) with the high level of IF because fecal digestibility of DM and energy decreased by 12% and 2% for protein ($P \leq 0.023$). The highest level of SF increased by 5% fecal digestibility of DM and energy ($P < 0.001$). The ratio DP/DE increased with the IF level and decreased with SF (especially in HighIF and HighSF diets. $P < 0.001$). The increase of SF level increased body fat and energy, and decreased body water on day 29th of gestation (pre-parturition), especially in the HighIF group ($P \leq 0.066$). At weaning, body protein content tended to be lower in animals fed with diets LowIF/HighSF and HighIF/High SF than in those fed LowIF/LowSF and HighIF/HighSF ($P = 0.054$), without any effect in body fat.

Keywords: insoluble fiber, soluble fiber, digestibility, body condition, rabbit does.

Introducción

La condición corporal de las conejas es un factor que está vinculado con la eliminación de conejas reproductoras (Rosell y de la Fuente, 2009). En general, parece que el tipo de pienso (siempre que cumpla con las recomendaciones) no parece que modifique la condición corporal de las conejas a medio-largo plazo (Theilgaard et al., 2006; Romero et al., 2011; Delgado et al., 2014 y 2017 y datos no publicados). Por otra parte, un aumento del nivel de fibra soluble parece que reduce la tasa de reposición de las conejas (Delgado et al. Datos no publicados), sin modificar la condición corporal. Por el contrario, algunos estudios en momentos concretos del ciclo productivo han observado alguna influencia del pienso: nivel y tipo de fibra (Rebollar et al., 2011) y nivel de fibra y proteína (Martínez-Vallespín et al., 2011). Estos últimos autores observaron que la inclusión de fibra soluble por almidón redujo el contenido energético de las conejas en lactación con el mayor nivel de proteína estudiado. En este contexto, resulta de interés estudiar si la inclusión de fibra soluble (FSol) puede afectar a la condición corporal de las conejas y si este efecto depende del nivel de fibra insoluble (FIns) del pienso.

Materiales y métodos

En este trabajo se utilizaron los mismos piensos descritos en la comunicación de Farias et al. (2017) y los mismos animales para la obtención de los resultados. Para determinar la digestibilidad fecal de la MS, PB y energía se utilizaron un total de 32 conejas (16 conejas/tratamiento) elegidas al azar entre las conejas que formaban parte del experimento. Se realizó una recogida diaria de heces durante cuatro días consecutivos (entre los días 7 y 11 de la primera gestación) y se midió el consumo durante ese periodo (acceso *ad libitum* al pienso). Las heces fueron almacenadas a -20°C, se secaron a 80°C durante 48 h y se molieron a 1mm para la realización de los análisis. La composición corporal de las conejas (humedad, proteína, grasa, cenizas y energía) se estimó mediante las ecuaciones de regresión desarrolladas por Nicodemus et al. (2009) y Pereda (2010), a partir de los datos de impedancia bioeléctrica (BIA), el peso de la coneja y su estado fisiológico. Las medidas de BIA se realizaron el día de la inseminación (IA), un día antes del parto (pre-parto), inmediatamente tras el parto y al destete. Los datos se analizaron mediante un modelo mixto de medidas repetidas donde el factor de repetición fueron los eventos reproductivos a lo largo del tiempo (IA, parto, destete) y la coneja se consideró como un efecto aleatorio.

Resultados y discusión

Las conejas alimentadas con el mayor nivel de FIns aumentaron su consumo durante el periodo de digestibilidad un 13% con respecto al grupo con menor nivel de FIns ($P = 0,036$, **Tabla 1**). Esto se debió a que la digestibilidad fecal de la MS y energía se redujo un 12% y la de la proteína un 2% al aumentar el nivel de FIns ($P \leq 0,023$).

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los piensos experimentales.

| | Pienso | | | | EEM | | P-valor | | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------|-------|---------|--------|-------|
| | BFIns/ BFSol | BFIns/ AFSol | AFIns/ BFSol | AFIns/ AFSol | FI y FS | FI×FS | FI | FS | FI×FS |
| N | 5 | 7 | 6 | 8 | | | | | |
| Consumo, g MS/d | 141 | 140 | 153 | 164 | 7,92 | 11,2 | 0,036 | 0,59 | 0,43 |
| <i>Digestibilidad fecal aparente,%</i> | | | | | | | | | |
| Materia seca | 64,5 | 67,2 | 56,1 | 59,4 | 0,52 | 0,73 | <0,001 | 0,001 | 0,69 |
| Energía | 66,6 | 69,2 | 58,2 | 62,1 | 0,51 | 0,71 | <0,001 | 0,001 | 0,40 |
| Proteína bruta | 81,3 | 82,4 | 79,7 | 80,4 | 0,53 | 0,75 | 0,023 | 0,26 | 0,83 |
| [PB digestible/ED], g/MJ | 12,2 | 11,9 | 13,7 | 13,0 | 0,007 | 0,011 | <0,001 | <0,001 | 0,062 |
| ED, MJ/kg MS | 12,0 | 12,1 | 11,0 | 11,4 | 0,091 | 0,13 | <0,001 | 0,097 | 0,34 |
| PB digestible, % MS | 15,8 | 16,0 | 14,6 | 14,5 | 0,10 | 0,14 | <0,001 | 0,64 | 0,42 |

BFIns: baja fibra insoluble, BFSol: baja fibra soluble, AFIns: alta fibra insoluble, AFSol: alta fibra soluble. EEM: error estándar de la media.

Tabla 2. Efecto de los niveles de fibra insoluble y soluble sobre la composición química corporal de conejas nulíparas hasta el segundo parto.

| | Pienso | | | | Partos | | EEM | | | | P-valor | | | | |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------|------|---------|--------|----------|-------------------|------------------|------|-------|--------|----------|
| | BFIns/ BFSol | BFIns/ AFSol | AFIns/ BFSol | AFIns/ AFSol | 1 | 2 | FI y FS | FI× FS | FS Parto | Cov1 ¹ | Cov ² | FI | FS | FI× FS | FS Parto |
| N | 24 | 24 | 24 | 24 | | | | | | | | | | | |
| Inseminación Artificial 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Humedad, % | 59,4 | 59,3 | 59,3 | 59,2 | 58,8 | 59,7 | 0,18 | 0,25 | 0,18 | <0,001 | 0,24 | 0,64 | 0,66 | 0,98 | 0,002 |
| Proteína, % | 17,9 | 17,9 | 17,9 | 17,9 | 18,0 | 17,8 | 0,03 | 0,04 | 0,03 | <0,001 | 0,85 | 0,42 | 0,16 | 0,51 | <0,001 |
| Grasa, % | 16,0 | 16,1 | 16,1 | 16,1 | 16,3 | 15,9 | 0,19 | 0,27 | 0,19 | <0,001 | 0,59 | 0,90 | 0,87 | 0,95 | 0,12 |
| Cenizas, % | 3,08 | 3,09 | 3,10 | 3,09 | 3,10 | 3,08 | 0,01 | 0,01 | 0,009 | <0,001 | 0,21 | 0,55 | 0,98 | 0,78 | 0,32 |
| Energía, kJ/100gPV | 1104 | 1109 | 1111 | 1115 | 1159 | 1060 | 7,98 | 11,3 | 9,71 | <0,001 | 0,21 | 0,58 | 0,70 | 0,97 | <0,001 |
| Preparto | | | | | | | | | | | | | | | |
| Humedad, % | 60,5 ^b | 59,0 ^a | 59,9 ^b | 59,7 ^{ab} | - | - | 0,21 | 0,30 | - | 0,005 | 0,59 | 0,92 | 0,004 | 0,044 | - |
| Proteína, % | 17,1 | 17,1 | 17,2 | 17,2 | - | - | 0,05 | 0,07 | - | 0,007 | 0,51 | 0,64 | 0,99 | 0,93 | - |
| Grasa, % | 16,3 | 17,7 | 16,8 | 17,1 | - | - | 0,27 | 0,39 | - | <0,001 | 0,060 | 0,89 | 0,003 | 0,066 | - |
| Cenizas, % | 2,93 | 2,91 | 2,92 | 2,93 | - | - | 0,01 | 0,01 | - | <0,001 | 0,67 | 0,75 | 0,39 | 0,14 | - |
| Energía, kJ/100gPV | 1234 ^a | 1297 ^c | 1258 ^{ab} | 1270 ^{bc} | - | - | 8,90 | 12,6 | - | <0,001 | 0,060 | 0,91 | 0,004 | 0,045 | - |
| Parto 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Humedad, % | 60,7 | 60,3 | 60,4 | 60,4 | 60,3 | 60,6 | 0,24 | 0,34 | 0,21 | 0,29 | 0,024 | 0,68 | 0,64 | 0,61 | 0,14 |
| Proteína, % | 18,1 | 18,0 | 18,0 | 18,0 | 17,9 | 18,1 | 0,04 | 0,06 | 0,04 | 0,16 | 0,57 | 0,52 | 0,33 | 0,91 | 0,001 |
| Grasa, % | 14,6 | 15,1 | 14,7 | 15,0 | 15,5 | 14,3 | 0,21 | 0,30 | 0,19 | 0,26 | <0,001 | 0,95 | 0,17 | 0,67 | <0,001 |
| Cenizas, % | 3,20 | 3,15 | 3,15 | 3,15 | 3,13 | 3,20 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,003 | 0,58 | 0,18 | 0,18 | 0,34 | <0,001 |
| Energía, kJ | 1096 | 1121 | 1107 | 1114 | 1130 | 1089 | 8,78 | 12,4 | 7,94 | 0,56 | <0,001 | 0,90 | 0,20 | 0,47 | <0,001 |
| Destete 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Humedad, % | 62,2 | 61,3 | 61,9 | 61,9 | - | - | 0,37 | 0,52 | - | 0,99 | 0,020 | 0,77 | 0,40 | 0,34 | - |
| Proteína, % | 19,1 | 18,8 | 18,8 | 19,1 | - | - | 0,10 | 0,14 | - | 0,57 | 0,84 | 0,88 | 0,90 | 0,054 | - |
| Grasa, % | 14,1 | 14,9 | 14,3 | 14,5 | - | - | 0,34 | 0,48 | - | 0,55 | 0,055 | 0,84 | 0,34 | 0,55 | - |
| Cenizas, % | 3,05 | 3,04 | 3,05 | 3,03 | - | - | 0,01 | 0,02 | - | 0,004 | 0,52 | 0,96 | 0,64 | 0,86 | - |
| Energía, kJ/100gPV | 1060 | 1099 | 1074 | 1075 | - | - | 14,8 | 20,9 | - | 0,94 | 0,020 | 0,81 | 0,34 | 0,36 | - |

BFIns: baja fibra insoluble, BFSol: baja fibra soluble, AFIns: alta fibra insoluble, AFSol: alta fibra soluble. EEM: error estándar de la media.

¹ Peso inicial de la coneja. ² Condición corporal inicial. a-c Medias con letras diferentes indican que difieren con P<0,050.

Debido a ello, al aumentar el nivel de FIns se observó una reducción de la energía digestible y de la proteína digestible (12,0 vs. 11,2 MJ/kg MS y 15,9 vs. 14,5% MS, respectivamente; P < 0,001), tal como se esperaba. Por otra parte, el incremento del nivel de FSol aumentó la digestibilidad fecal de la MS y energía en un 5% (P < 0,001), sin modificar el de la proteína bruta. La energía digestible tendió a aumentar con el incremento del nivel de FSol en el pienso (P = 0,097). En consecuencia, el ratio PBd/ED aumentó con el nivel de FIns y se redujo con el nivel de FSol (especialmente entre los piensos AFIns y AFSol). El incremento del nivel de FSol aumentó el nivel de grasa y energía y redujo el contenido de agua corporal el día 29 de la primera gestación (pre-parto), efecto que se observó de manera más marcada con el nivel más bajo de FIns (Tabla 2. P ≤ 0,066), sin observarse diferencias en la prolificidad entre las conejas de los distintos tratamientos (Farias et al., 2017). Sin embargo, no se observó ninguna diferencia entre tratamientos tras el parto. En el destete, el contenido en proteína tendió a ser menor

en los animales que recibieron los piensos BFIns/AFSol y AFIns/BFSol con respecto a aquellas alimentadas con los piensos BFIns/BFSol y AFIns/AFSol ($P = 0,054$), sin observarse ningún efecto en el nivel de grasa.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto AGL2015-66485-R y MEDGAN ABI-2913. Agradecemos a Pilar Cachaldora (COREN) la fabricación de los piensos experimentales.

Bibliografía

- Delgado R., Abad-Guamán R., Nicodemus N., Villamide M.J., Ruiz N., Menoyo D., Carabaño R., García J. 2014. Efecto del nivel de fibra soluble y del nivel de ácidos grasos w_3 sobre el rendimiento de las conejas y sus camadas durante las dos primeras lactaciones. XXXIX Symposium de Cunicultura. pp. 82-85. Tudela.
- Delgado R., Abad-Guamán R., de la Mata D., 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.* <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.02.015>
- Farias C., Noboa T., Delgado R., Allam-Sayed R., Brambillasca S., Ocasio-Vega C., Carabaño R., Nicodemus N., García J. 2017. Efecto del nivel de fibra soluble e insoluble sobre el rendimiento de conejas nulíparas y sus camadas hasta el segundo parto. XLII Symposium de Cunicultura. Murcia.
- Martínez-Vallespín B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Pascual J.J., Blas E. 2011. Combined feeding of rabbit female and young: partial replacement of starch with acid detergent fibre or/and neutral detergent soluble fibre at two protein levels. *Livest. Sci.*, 141: 155-165. doi 10.1016/j.livsci.2011.05.014.
- Nicodemus N., Pereda N., Romero C., Rebollar P.G. 2009. Évaluation de la technique d'impédance bioélectrique (IBE) pour estimer la composition corporelle de lapines reproductrices. In: *Proc. 13èmes Journées de la Recherche Cunicole*. p. 109-112.
- Pereda N. 2010. Evaluación de la técnica del Análisis de Impedancia Bioeléctrica (BIA) para predecir la composición corporal: aplicación en conejas sometidas a diferentes sistemas de alimentación durante la recría, PhD Thesis, UPM., Madrid, Spain.
- Rebollar P.G., Pereda N., Schwarz B.F., Millán P., Lorenzo P.L., Nicodemus N. 2011. Effect of feed restriction or feeding high-fibre diet during rearing period on body composition, serum parameters and productive performance of rabbit does. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 163: 67-76.
- Romero C., Nicodemus N., Martínez de Morentin C.G., García A.I., De Blas C. 2011. Effect of grinding size of barley and dehydrated alfalfa on performance and body composition of does during their early reproductive cycles. *Livest. Sci.*, 140: 55-61.
- Rosell J.M., de la Fuente L.F. 2009. Culling and mortality in breeding rabbits. *Prev. Vet. Med.*, 88: 120-127.
- Theilgaard P., Sánchez J.P., Pascual J.J., Friggens N.C., Baselga M. 2006. Effect of body fatness and selection for prolificacy on survival rabbit does assessed using a cryopreserved control population. *Livest. Sci.*, 103: 65-73.

Efeito da incorporação de palha de feijão frade (*Vigna unguiculata*) não tratada ou tratada com fungos (*Pleurotus citrinopileatus*) na dieta de coelhos em crescimento sobre as performances e digestibilidade

*Effects of the dietary incorporation of cowpea (*Vigna unguiculata*) stover untreated and pre-treated with white-rot fungi (*Pleurotus citrinopileatus*) on performance and digestibility of rabbits*

*Efecto de la incorporación de paja de judía de careta (*Vigna unguiculata*) no tratados y tratados con hongo de la pudrición blanca (*Pleurotus citrinopileatus*) en el rendimiento y digestibilidad de conejos*

Andrade E.^{1,2}, Pinheiro V.^{1,3*}, Gonçalves A.⁴, Marques Guilhermina, G.⁴, Silva V.¹, Martins J.J.^{1,3}, Ferreira L.^{1,4}, Rodrigues M.^{1,4}

¹ Departamento de Zootecnia, Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, 5000-801 Vila Real, Portugal

² Fundação CAPES, Ministério da Educação do Brasil, Brasília - DF 70040-020, Brasil

³ CECAV, Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, 5000-801 Vila Real, Portugal.

⁴ CITAB, Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, 5000-801 Vila Real, Portugal.

* Dirección de contacto: vpinheir@utad.pt

Resumen

El objetivo de este estudio fue el de evaluar el efecto de incorporación de paja de judía de careta no tratada y tratada con el hongo *Pleurotus citrinopileatus* en los rendimientos y digestibilidad de conejos en crecimiento. Un total de 80 animales fueron distribuidos aleatoriamente cinco tratamientos: control sin paja (FF0), incorporación de 5% (FF5) y 10% (FF10) de paja no tratada; y de 5% (FF5T) y 10% (FF10T) de paja tratada con el hongo. El experimento ha transcurrido entre el 35° y el 63° día de edad, siendo los conejos alojados individualmente y alimentados *ad libitum* con dietas no medicamentadas. El peso final ha sido afectado por el nivel de la incorporación de paja de judía de careta ($P = 0,040$), donde los animales del tratamiento control alcanzaron un peso superior al tratamiento con 10% de incorporación de paja (2365 vs. 2196 g). El peso final de los animales alimentados con paja tratada con *Pleurotus citrinopileatus* fue mayor ($P < 0,05$) que el de los animales alimentados con la paja no tratada (2323 vs. 2264 g). En ninguna de las otras variables (ingestión media diaria, ganancias de peso, índice de conversión y la digestibilidad) se han observado cambios entre tratamientos ($P > 0,05$). Los resultados indican que la incorporación de paja de judía de careta no afectó la mayoría de los parámetros de rendimiento de los animales y la digestibilidad de la dieta, excepto el peso final de los animales, y que el tratamiento de la paja con *Pleurotus citrinopileatus* inhibe los efectos negativos de la incorporación paja de judía de careta en la dieta de conejos en crecimiento.

Palabras clave: conejos, alimentación, basidiomicetos, paja de judía de careta, subproductos.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of the incorporation of untreated and treated cowpea stover with *Pleurotus citrinopileatus* white-rot fungus on the productive performance of growing rabbits (live weight, feed intake and conversion feed rate) and digestibility of diets. A total of 80 animals were randomly

allocated among five dietary treatments; incorporation of 0% (FF0), 5% (FF5) and 10% (FF10) of untreated stover, and 5% (FF5T) and 10% (FF10T) of fungus treated stover. The trial was conducted between the 35th and 63rd days of age, with rabbits housed individually and fed *ad libitum* with non-medicated diets. The final live weight was affected by the level of incorporation of untreated cowpea stover ($P = 0.0401$), and control animals reached a higher weight than the treatment with 10% stover incorporation (2365 vs. 2196 g). The final live weight of the animals fed treated stover was also higher ($P > 0.05$) than the animals fed with untreated straw (2323 vs. 2264 g). No changes between treatments ($P < 0.05$) were observed in any of the other analyzed variables (average daily feed intake, weight gain, feed conversion and nutrient digestibility). The results obtained indicate that the incorporation of cowpea stover did not affect the general parameters of animal performance and nutrient digestibility, except for the final weight of the animals. The results demonstrate that the treatment of cowpea stover with *Pleurotus citrinopileatus* inhibited the negative effects of cowpea stover incorporation in diets of growing rabbits.

Keywords: rabbit, basidiomycetes, by-products, feeding, cowpea stover.

Introdução

A variação dos preços das matérias primas utilizadas para o fabrico de alimentos compostos para animais tem sofrido grandes oscilações na última década, condicionando os custos de produção das explorações animais e a formulação das dietas. Ao nível produção de coelhos, este problema é ainda mais grave uma vez que os custos com a alimentação representam cerca de 70% dos custos totais de produção (Oliveira *et al.*, 2008). Assim, estudos com a inclusão de matérias-primas alternativas, que permitam uma diminuição de custos e, ao mesmo tempo, assegurem a manutenção das performances de crescimento dos animais, têm vindo a adquirir maior importância na área de nutrição e alimentação animal.

Devido às suas características nutricionais e abundância, os subprodutos provenientes do cultivo de leguminosas para a obtenção de grão, nomeadamente as palhas e vagens são materiais que podem ser incorporados nos alimentos compostos para herbívoros. Com efeito, estudos anteriormente desenvolvidos apontam para valores elevados de proteína bruta (14%) e digestibilidade da matéria orgânica (da ordem de 60%) para a palha de feijão-frade (*Vigna unguiculata*, Andrade *et al.*, 2016). No entanto, devido à colheita tardia do grão, o estágio de desenvolvimento fenológico avançado da planta acarreta a deposição de fatores antinutricionais (Andrade *et al.*, 2016) que reduzem o seu aproveitamento pelo animal e condicionam a sua utilização nas dietas para animais criados de forma intensiva.

Neste sentido, têm vindo a ser utilizados diversos tratamentos (químicos, físicos e biológicos) para melhorar o valor nutritivo destes subprodutos. O uso de fungos de podridão branca é uma destas alternativas, principalmente por promover alterações na estrutura da lignina, facilitando o acesso aos polissacarídeos estruturais, potencialmente digestíveis (Ribeiro *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2016). Estudos anteriores mostraram que o tratamento de palha de feijão-frade (Andrade *et al.*, 2016), ou folhas de oliveira (Ribeiro *et al.*, 2012), com fungos da podridão branca melhoraram o valor nutritivo e podem ser incorporadas em dietas para coelhos. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a inclusão de palha de feijão-frade não tratada e tratada com o fungo *Pleurotus citrinopileatus* em alimentos compostos e seus efeitos na performance de crescimento dos coelhos e digestibilidade das dietas.

Materiais e métodos

Dietas, animais e delineamento experimental

Cinco dietas experimentais foram preparadas contendo 0, 5 e 10% de palha de feijão-frade não tratada (FF0, FF5 e FF10, respetivamente); e 5 e 10% de palha de feijão-frade tratada (FF5T e FF10T, respetivamente) com o fungo *Pleurotus citrinopileatus*. A palha tratada foi obtida após um processo de incubação de fermentação em estado sólido em caixas Microbox TP3000 + TPD3000 XXL (Microbox Combiness, Nevele, Bélgica) durante 22 dias, conforme descrito por Andrade *et al.* (2016). As dietas foram formuladas para suprir as necessidades nutricionais de coelhos em crescimento de acordo com as recomendações de De Blas e Mateos (1998). A composição química da palha de feijão-frade não tratada e tratada e das dietas é apresentada nos **Quadros 1 e 2**, respetivamente.

Quadro 1. Composição química da palha de feijão-frade (*Vigna unguiculata*) não tratada e tratada com o fungo *Pleurotus citrinopileatus*.

| | Parâmetros ¹ | | | |
|-------------------------------|-------------------------|--------|-------|-------|
| | MS | MO | NDF | PB |
| Palha de feijão-frade | 897 | 889 | 576 | 105 |
| Palha de feijão-frade tratada | 915 | 891 | 668 | 122 |
| Variação | + 2% | + 0,2% | + 16% | + 16% |

¹ MS, matéria seca; MO, matéria orgânica; NDF, fibra do detergente neutro; PB, proteína bruta; dados expressos em g/kg de MS, com exceção da fração MS que está expressa em g/kg.

O ensaio com os animais foi desenvolvido no Departamento de Zootecnia da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, no período entre Novembro e Dezembro de 2016. Os animais foram manuseados segundo os princípios de bem-estar animal, conforme legislação portuguesa (Portaria n° 1005/92, 214/08, 635/09). Foram utilizados 80 coelhos do tipo Neozelandês × Californiano, de ambos os sexos, alojados em jaulas individuais num pavilhão com controlo de temperatura (18-23°C) e de fotoperíodo (12 horas de luz; 08:00h às 20:00h). Durante todo o ensaio, os coelhos foram alimentados *ad libitum* com dietas não medicadas e com acesso permanente à água de abeberamento. O período de avaliação experimental decorreu entre o 35º ao 63º dia de idade dos coelhos.

Quadro 2. Ingredientes e composição química de dietas para coelhos em crescimento com inclusão de 0%, 5% e 10% de palha não tratada (FF); e 5% e 10% de palha tratada (FFT) com fungo

| | Dietas experimentais | | | | |
|---|----------------------|------|------|------|-------|
| | FF0 | FF5 | FF10 | FF5T | FF10T |
| Ingredientes (g/kg, de alimento) | | | | | |
| Farelo de trigo | 263 | 300 | 300 | 300 | 301 |
| Luzerna | 220 | 170 | 120 | 170 | 120 |
| Semente de girassol | 209 | 210 | 219 | 209 | 219 |
| Polpa de beterraba | 159 | 131 | 108 | 125 | 92 |
| Grão de cevada | 69 | 77 | 66 | 80 | 80 |
| Melaço de cana-de-açúcar | 18 | 10 | 16 | 14 | 20 |
| Óleo de soja | 8 | 2 | 3 | 2 | 3 |
| Grão de soja (47%) | 0 | 0 | 9 | 0 | 7 |
| Palha de feijão-frade | 0 | 50 | 100 | 0 | 0 |
| Palha de feijão-frade tratada | 0 | 0 | 0 | 50 | 100 |
| Minerais, vitaminas e aditivos | 54 | 51 | 58 | 50 | 58 |
| Composição química (g/kg MS) | | | | | |
| Matéria seca (g/kg) | 895 | 902 | 902 | 902 | 904 |
| Matéria orgânica | 883 | 888 | 883 | 886 | 883 |
| Proteína bruta | 162 | 162 | 163 | 162 | 163 |
| Energia Bruta (kJ/kg MS) | 18,0 | 18,0 | 18,1 | 17,9 | 18,0 |
| Fibra em Detergente Neutro | 392 | 406 | 412 | 418 | 419 |

Determinações

Foram realizadas pesagens semanais dos animais e do alimento e calculado o ganho médio diário (GMD), a ingestão média diária de alimento (IMD) e o índice de conversão alimentar (ICA), pelo quociente entre o IMD e o GMD. A análise da composição química das dietas e das fezes foi efectuada de acordo com as metodologias propostas pela AOAC (1990) e Van Soest *et al.* (1991). Entre o 55° e o 59° dia de idade dos coelhos, foram colhidas amostras das dietas e as fezes de 50 coelhos (10 por tratamento) para determinação da digestibilidade in vivo da matéria orgânica, proteína bruta e fibra em detergente neutro isento de cinzas (NDFa), de acordo com o método de referência Europeu (Perez *et al.*, 1995).

Tratamento estatístico

Os dados foram analisados através de um delineamento inteiramente casualizado, com tipo de dieta como a principal fonte de variação, utilizando o programa JMP 7. (SAS, 2007). Contrastes não-ortogonais (FF0 vs. FF5 vs. FF10) foram utilizados para avaliar o efeito do nível de inclusão de palha não tratada na performance e digestibilidade dos coelhos. Contrastes ortogonais (FF5+FF10 vs. FF5T+FF10T) foram utilizados para avaliar os efeitos da inclusão de palha não tratada ou palha tratada nas mesmas variáveis. As diferenças foram consideradas significativas para $P < 0,05$.

Resultados e discussão

Durante a realização do ensaio houve registo de apenas duas mortes (FF5T e FF10) pelo que a taxa de mortalidade não foi calculada. O efeito das dietas nas performances de crescimento e na digestibilidade das dietas é apresentado no Quadro 3. O peso vivo final foi afetado pelo nível de incorporação de palha de feijão-frade não tratada ($P=0,041$) que decresceu cerca de 7%, entre os grupos controlo e com 10% de incorporação de palha. Em nenhuma das outras variáveis analisadas (consumo diário, ganho de peso, conversão alimentar e digestibilidade dos nutrientes) foram observadas alterações entre tratamentos ($P < 0,05$). Os animais alimentados com palha tratada apresentaram peso vivo final 5% superior ($P=0,0391$) aos alimentados com palha não tratada (2323 vs. 2215 g).

Embora a formulação das dietas tenha tido por objetivo desenhar dietas isoproteicas, isoenergéticas e isofibras, é de salientar que a incorporação de palha de feijão frade na dieta resultou num aumento da fração NDF (**Quadro 2**). De facto, a quantidade e a composição química e física da fibra dos componentes de uma dieta tem efeitos importantes na digestão e no crescimento dos animais (Garcia *et al.*, 1999). A degradação das performances com a incorporação de palha não tratada e a sua melhoria com a palha tratada com os fungos, alterou possivelmente algumas características das dietas que levou a uma melhoria na ingestão e no crescimento.

Quadro 3. Performance de crescimento de coelhos e digestibilidade da dieta com inclusão de 0%, 5% e 10% de palha não tratada (FF); e 5% e 10% de palha tratada (FFT) com fungos.

| | Dietas experimentais | | | | | SEM | P valor | |
|--|----------------------|--------------------|-------------------|------|-------|-------|----------------------|-------------------------|
| | FF0 | FF5 | FF10 | FF5T | FF10T | | FF0 vs. FF5 vs. FF10 | FF5+FF10 vs. FF5T+FF10T |
| Performance de crescimento (n = 16/grupo) | | | | | | | | |
| Peso vivo aos 35 d (g) | 1061 | 1022 | 995 | 1045 | 1058 | 37,5 | 0,435 | 0,249 |
| Peso vivo aos 63 d (g) | 2365 ^b | 2233 ^{ab} | 2196 ^a | 2290 | 2356 | 52,5 | 0,041 | 0,039 |
| Ganho médio diário (g/d) | 46,6 | 43,3 | 42,9 | 44,4 | 46,3 | 1,45 | 0,141 | 0,098 |
| Ingestão média diária (g/d) | 155 | 148 | 153 | 151 | 163 | 4,9 | 0,587 | 0,190 |
| Índice de conversão alimentar | 3,35 | 3,44 | 3,57 | 3,42 | 3,52 | 0,074 | 0,121 | 0,063 |
| Digestibilidade aparente (n = 10/grupo) | | | | | | | | |
| Matéria seca (g/kg) | 567 | 566 | 566 | 569 | 556 | 11,2 | 0,993 | 0,792 |
| Matéria Orgânica (g/kg) | 578 | 571 | 568 | 573 | 562 | 11,5 | 0,831 | 0,848 |
| NDFa (g/kg) | 362 | 375 | 378 | 385 | 359 | 18,2 | 0,772 | 0,797 |
| Proteína Bruta (g/kg) | 709 | 690 | 689 | 684 | 661 | 11,0 | 0,474 | 0,104 |

Os resultados obtidos indicam que o tratamento da palha tratada com *Pleurotus citrinopileatus* inibiu os efeitos negativos da incorporação de palha de feijão-frade não tratada na dieta dos animais. Este efeito foi também observado por Ribeiro et al. (2012), ao fornecer folha de oliveira não tratada e tratada com *Ganoderma resinaceum* a coelhos em crescimento.

Conclusão

Os resultados obtidos permitem concluir que a incorporação de palha de feijão-frade não afetou a generalidade dos parâmetros de performance animal e digestibilidade das dietas, exceto o peso final dos animais. Para além disso, os resultados indicam que o tratamento da palha com *Pleurotus citrinopileatus* inibiu os efeitos negativos da incorporação de palha de feijão-frade na dieta de coelhos em crescimento, aumentando o peso vivo final.

Agradecimentos

Estudo financiado pelo 7º Programa Quadro da União Europeia através do projeto nº 613781 "Eurolegume – Enhancing of legumes growing in Europe through sustainable cropping for protein supply for food and feed".

Bibliografia

Andrade E.A., Silva V., Gonçalves A., Pinheiro V., Marques G.M.S., Ferreira L.M.M., Rodrigues M.A.M. 2016. Efecto del tratamiento biológico con hongo de la pudrición blanca en paja de judía de careta (*Vigna unguiculata*) en la alimentación de los conejos. En: 41º Symposium de Cunicultura ASESCU, Hondarribia, España. pp. 74-77.

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*, 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

De Blas J. C., Mateos G.G. 1998. *Feed formulation*. En: *The Nutrition of the Rabbit*. pp 241-253.

García J., Carabaño R., de Blas C. 1999. *Effect of fibre source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits*. *Journal Animal Science*, 77: 898-905.

Oliveira A.F.G., Scapinello C., Maria B.G., Jobim C.C., Monteiro A.C., Furuta L., Ferreira W.M. 2008. *Use of simplify diet with cassava by products for rabbits*. En: *9th World Rabbit Congress*. Verona, Italia, pp. 10-13.

Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi Bini R., Dalle Zotte A., Cossu ME., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernandez Carmona J., Falcão-e-Cunha L., Bengala Freire J. 1995. *European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits*. *World Rabbit Science*, 3: 41-43.

Portaria 1005/92. *Portaria de 23 de Outubro de 1992, que aprova as normas técnicas de protecção dos animais utilizados para fins experimentais e outros fins científicos*. Portugal.

Ribeiro L., Pinheiro V., Otor-Monteiro D., Mourão J., Bezerra R.M.F., Dias A.A., Bennett R.N., Marques G., Rodrigues M.A.M. 2012. *Effects of the dietary incorporation of untreated and white-rot fungi (*Ganoderma resinaceum* Boud) pre-treated olive on growing rabbits*. *Animal Feed Science and Technology*, 173: 244-251.

SAS Institute. 2007. *JMP*. SAS Institute Inc., Cary NC, USA.

Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. *Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition*. *Journal Dairy Science*, 74: 3583-3594.

Efecto del nivel de restricción alimentaria y la densidad animal sobre los rendimientos productivos y de la canal en conejos en crecimiento

Effect of feed restriction and animal density on performance and carcass yield of growing rabbits

Medina J.A.¹, García-Ruiz A.I.¹, Marco M.², Terreros E.², Fernández-Schwarz B.², Alfonso C.¹, Saiz A.^{1*}

¹ Nutreco Poultry Research Centre, Carretera CM-4004 km 10.5, 45950 Casarrubios del Monte, España

² NANTA, Ronda de Poniente 9, 28760 Tres Cantos, España

* Dirección de contacto: a.saiz.b@trouwnutrition.com

Resumen

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la restricción alimentaria sobre animales alojados en jaulas con 8 o 5 animales por jaula. Se establecieron tres niveles de alimentación: *ad libitum* y dos niveles de restricción, 90 % y 80 % de la ración diaria *ad libitum*. La densidad animal no afectó a ninguno de los parámetros de rendimientos productivos y de la canal estudiados. Los animales alimentados *ad libitum* mostraron una mayor ganancia de peso, consumo y rendimiento de la canal, pero menor tamaño de estómago y digestivo completo que aquellos alimentados bajo restricción alimentaria. De este estudio se puede concluir que el rendimiento productivo y de la canal de animales sometidos a restricción es independiente de la densidad de animales alojados en las jaulas.

Palabras clave: Densidad animal, restricción, rendimiento a la canal, rendimientos productivos.

Abstract

The objective of this study was to compare the effect of feed restriction on growing rabbits allocated in cages with 8 animals/cage or 5 animals/age. Three feeding regimens were established: *Ad libitum*, and two levels of restriction, 80 % and 90 % of the *ad libitum* daily ration. Animal density didn't show an effect on animal performance or carcass yield. Animals fed *ad libitum* showed higher weight gain, feed intake and carcass yield but lower stomach and digestive tract weights than those which were under feed restriction. When the level of restriction was increased, weight gain, feed intake and carcass yield of animals was reduced. From this study it could be concluded that performance and carcass yield of animals is not dependent on the animal's density.

Keywords: Animal density, restriction, carcass yield, performance.

Introducción

El uso de la restricción alimentaria está cada vez más extendido como estrategia para disminuir la mortalidad y morbilidad (Romero *et al.*, 2010) de los gazapos en el post destete. Este método permite optimizar el uso del pienso por parte de los animales, mejorando su índice de conversión (Gidenne *et al.*, 2012). Existen diferentes estrategias de restricción, ya sea limitando el tiempo de acceso al comedero o limitando la cantidad de pienso que se aporta al animal.

Cuando la densidad de animales es mayor se pueden producir problemas de competencia por el alimento (Aubret y Duperray, 1993), produciendo un empeoramiento de los rendimientos productivos (Ferreira y Santiago,

1999) que se podría ver agravado en el caso de un menor acceso al alimento como ocurre con ciertos sistemas de restricción.

El objetivo de este estudio fue comparar el efecto de la restricción alimentaria sobre gazapos en crecimiento alojados en jaulas a distintas densidades.

Material y métodos

El estudio se realizó en el Poultry and Rabbit Research Centre de Nutreco (Toledo). Se utilizaron un total de 720 gazapos destetados a 33 días de edad con un peso medio de 714 g. Estos animales fueron alojados en 120 jaulas colectivas (38 x 100cm) en grupos de 5 u 8 animales por jaula, en función del tratamiento. Los animales se alojaron evitando introducir más de un hermano de la misma camada en una misma jaula. Se establecieron 3 niveles de alimentación: *ad libitum* restringidos al 90 % (R90) de su ración diaria *ad libitum*, con el objetivo de llegar a un peso final 200 g inferior al peso final *ad libitum*, y restringidos al 80 % (R80) de su ración diaria *ad libitum*, con el objetivo de llegar a un peso final 400 g inferior al peso final *ad libitum*. De esta forma se estableció un diseño factorial basado en 3 niveles de alimentación (N) x 2 densidades de animales (D). Todos los animales consumieron el mismo pienso comercial (CUNICEBIAL, NANTA) con 2450 kcal/kg de ED y 16 % de proteína bruta. En los animales sometidos a restricción alimentaria, la ración correspondiente se añadió a las 7.00 am, previa retirada de los restos de pienso no consumidos el día anterior. Los animales y el pienso fueron pesados a 33, 41, 48, 55 y 61 días de vida. El peso de los animales fue utilizado para calcular la ración diaria de los animales restringidos en base a sus necesidades metabólicas de energía. A 62 d de vida se tomó y pesó un animal por jaula, y tras previo aturdimiento eléctrico, fue desangrado, eviscerado y su canal fue pesada tras un periodo de aproximadamente 4 horas de oreo. El peso relativo al peso vivo (% PV) del hígado, estómago vacío, ciego y aparato digestivo completo fue determinado. El análisis estadístico de las variables productivas y de rendimiento de la canal fue realizado con el procedimiento MIXED de SAS vs 9.4 (Statistical Systems Institute Inc., 2002). Para los rendimientos productivos se tomó el peso al inicio como covariable, el bloque como efecto aleatorio, y el nivel de alimentación y la densidad animal como efectos fijos. La mortalidad se analizó como una distribución binomial mediante el procedimiento GENMOD de SAS.

Resultados y discusión

Nos se encontró efecto de la interacción N x D ($P > 0,10$) sobre ninguno de los parámetros estudiados, por lo que solo se muestran los valores medios y las probabilidades de los efectos principales.

En la **tabla 1** se muestran los resultados de los rendimientos productivos en cada periodo. No se observaron diferencias significativas sobre la mortalidad, cuyo valor global fue de un 15,7 %, por lo que no se muestran en la tabla. Tampoco se encontró un efecto ($P > 0,05$) de la densidad animal sobre ninguno de los parámetros, en contra de lo encontrado por otros autores (Ferreira y Santiago, 1999). Como era de esperar el nivel de alimentación afectó significativamente al peso vivo (PV), ganancia media diaria (GMD) y consumo medio diario (CMD) en todos los periodos, siendo este más alto como era esperado en los animales alimentados *ad libitum*. El índice de conversión en el periodo global fue también más bajo en animales sometidos a restricción alimentaria cuando el periodo global fue estudiado. Esta mejora en el índice de conversión fue encontrada por otros autores (Gidenne *et al.*, 2009) y recalca el beneficio económico de la restricción alimentaria, aunque el peso alcanzado por los animales restringidos fue más bajo, por lo que este beneficio podría verse reducido.

En la **tabla 2** se muestran los resultados del estudio del rendimiento a la canal de los animales. Solo el nivel de alimentación mostró un efecto significativo sobre el peso relativo del hígado con respecto al peso del animal (% PV) y sobre el rendimiento de la canal (%) que fueron más altos en los animales alimentados *ad libitum* que los sometidos a restricción. Este último resultado también fue encontrado por otros autores (Gondret *et al.*, 2000; Gidenne *et al.*, 2009). Por el contrario el peso relativo del estómago vacío y del aparato digestivo completo fue más alto en los animales restringidos que en aquellos alimentados *ad libitum*, lo cual pudo ser debido al hiperdesarrollo del tracto digestivo en animales restringidos, al igual que fue observado por Lebas y Laplace (1982).

A la vista de estos resultados se podría concluir que el rendimiento productivo y de la canal de animales sometidos a restricción es independiente de la densidad de animales alojados en las jaulas.

Tabla 1. Resultados de rendimientos productivos por periodos.

| | Nivel de alimentación | | | Densidad | | RSM (n=20) | P>f | |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|--------------|-------------------|----------------|
| | Ad libitum | Restringido 90% | Restringido 80% | 5 | 8 | | P _N | P _D |
| Periodo de 33 a 41 d | | | | | | | | |
| PV 41 d, g | 1037a | 1020ab | 970b | 1018 | 1001 | 23,8 | 0,021 | 0,38 |
| GMD, g/d | 39,2a | 37,6ab | 34,1b | 37,3 | 36,7 | 0,80 | <0,0001 | 0,31 |
| CMD, g/d | 67,9a | 65,9ab | 60,1b | 65,6 | 63,7 | 1,59 | <0,0001 | 0,16 |
| IC | 1,73 | 1,75 | 1,76 | 1,76 | 1,74 | 0,027 | 0,40 | 0,20 |
| Periodo de 41 a 48 d | | | | | | | | |
| PV 48 d, g | 1377a | 1322ab | 1243c | 1327 | 1301 | 26,4 | <0,0001 | 0,23 |
| GMD, g/d | 49,4a | 43,3b | 39,2c | 44,4 | 43,5 | 0,97 | <0,0001 | 0,22 |
| CMD, g/d | 105,3a | 93,1b | 81,9c | 94,1 | 92,7 | 1,49 | <0,0001 | 0,27 |
| IC | 2,141 | 2,16 | 2,10 | 2,13 | 2,14 | 0,039 | 0,26 | 0,75 |
| Periodo de 48 a 55 d | | | | | | | | |
| PV 55 d, g | 1721a | 1629b | 1495c | 1626 | 1604 | 26,8 | <0,0001 | 0,32 |
| GMD, g/d | 49,5a | 43,8b | 35,5c | 42,9 | 42,9 | 1,21 | <0,0001 | 0,96 |
| CMD, g/d | 128a | 105b | 88,2c | 108 | 106 | 1,60 | <0,0001 | 0,12 |
| IC | 2,602a | 2,43b | 2,53b | 2,56 | 2,48 | 0,063 | 0,020 | 0,14 |
| Periodo de 55 a 61 d | | | | | | | | |
| PV 61 d, g | 2020a | 1864b | 1682b | 1871 | 1840 | 26,9 | <0,0001 | 0,162 |
| GMD, g/d | 48,9a | 38,5b | 31,2c | 40,8 | 38,2 | 1,21 | <0,0001 | 0,008 |
| CMD, g/d | 144a | 112b | 89,4c | 117 | 114 | 1,43 | <0,0001 | 0,028 |
| IC | 2,981 | 2,95 | 2,93 | 2,88 | 3,03 | 0,090 | 0,85 | 0,042 |
| Periodo global, 33-61 d | | | | | | | | |
| GMD, g/d | 46,3a | 40,9b | 35,2c | 41,2 | 40,4 | 0,51 | <0,0001 | 0,16 |
| CMD, g/d | 107a | 91,5b | 78,2c | 93,2 | 91,5 | 1,28 | <0,0001 | 0,10 |
| IC | 2,31a | 2,24ab | 2,23b | 2,26 | 2,26 | 0,03 | 0,008 | 0,95 |

PV: Peso Vivo. GMD: Ganancia Media Diaria. CMD: Consumo Medio Diaria. IC: Índice de conversión. RSM: Cuadrado Medio del Error. P: significación. N: Nivel de alimentación. D: Densidad de alimentación. Medias en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes.

Tabla 2. Resultados de rendimiento a la canal.

| | Nivel de alimentación | | | Densidad | | RSM (n=20) | P>f | |
|-------------------------|-----------------------|-----------------|-----------------|----------|------|------------|-------------------|----------------|
| | Ad libitum | Restringido 90% | Restringido 80% | 5 | 8 | | P _N | P _D |
| PV, % | 2092a | 1980b | 1846c | 1988 | 1957 | 38,4 | <0,0001 | 0,2895 |
| Hígado, % PV | 4,51a | 4,17b | 3,98b | 4,19 | 4,26 | 0,12 | <0,0001 | 0,4994 |
| Estómago vacío, % PV | 0,971b | 1,08a | 1,04a | 1,03 | 1,03 | 0,022 | <0,0001 | 0,7095 |
| Ciego, % PV | 7,04 | 7,66 | 7,36 | 7,38 | 7,32 | 0,38 | 0,2343 | 0,8414 |
| Aparato digestivo,% | 18,6b | 20,8a | 21,7a | 20,4 | 20,3 | 0,57 | <0,0001 | 0,6602 |
| Rendimiento de canal, % | 52,9a | 51,2b | 50,6b | 51,6 | 51,5 | 0,53 | <0,0001 | 0,8921 |

PV: Peso Vivo. P: significación. N: Nivel de alimentación. D: Densidad de alimentación. RSM: Cuadrado Medio del Error. P: significación. Medias en la misma fila con letras distintas son significativamente diferentes.

Agradecimientos

Los autores quieren dar las gracias especialmente a los research y farm technicians del centro experimental, a los compañeros de NANTA y a Guillermo Fondevila por su trabajo en este proyecto.

Bibliografía

Aubret J.M., Duperray J. 1993. *Effets d'une trop forte densité dans les cages d'engraissement. Cuniculture*, 109: 3-6.

Ferreira W., Santiago G. 1999. *Desempenho produtivo de coelhos criados em diferentes densidades populacionais. Revista Brasileira de Zootecnia*, 28: 113-117.

Gidenne T., Combes S., Feugier A., Jehl N., Arveux P., Boisot P., Briens C., Corrent E., Fortune H., Montessuy S., Verdelhan S. 2009. *Feed restriction strategy in the growing rabbit. 2. Impact on digestive health, growth and carcass characteristics. Animal*, 3: 509-521.

Gidenne T., Combes S., Fortun-Lamothe L. 2012. *Feed intake limitation strategies for the growing rabbit: effect on feeding behaviour, welfare, performance, digestive physiology and health: a review. Animal*, 6: 1407-1419.

Gondret F., Lebas F., Bonneau M. 2000. *Restricted feed intake during fattening reduces intramuscular lipid deposition without modifying muscle fiber characteristics in rabbits. Journal of Nutrition*, 130: 228-233.

Lebas F., Laplace J.P. 1982. *Mensurations viscérales chez le lapin. 4. Effets de divers modes de restriction alimentaire sur la croissance corporelle et viscérale. Annales de Zootechnie* 31: 391-430.

Romero C., Cuesta S., Astillero J.R., Nicodemus N., De Blas C. 2010. *Effect of early feed restriction on performance and health status in growing rabbits slaughtered at 2 kg live-weight. World Rabbit Science*, 18: 211-218.

Performances e digestibilidade em coelhos na engorda sujeitos a uma restrição de água

Rendimientos y digestibilidad en conejos de cebo sujetos a una restricción de agua

Growth performances and digestibility in growing rabbits subject to a water restriction

Pinheiro V.^{1,2*}, Gonçalves J.¹, Monteiro D.¹, Mourão J.L.^{1,2}

¹ Departamento de Zootecnia; 2 CECAV; - Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, PO Box 1013, 5001 801 Vila Real, Portugal

* Direção de contacto: vpinheir@utad.pt

Resumen

El objetivo de este trabajo fue el de estudiar los rendimientos productivos y la digestibilidad de la dieta en conejos en engorde, sometidos a una restricción en el tiempo de acceso al agua. En un primer ensayo, se controlaron 144 conejos de ambos sexos (NZ x C) que fueron divididos en cuatro grupos (9 réplicas de 4 conejos por tratamiento), para estudiar los rendimientos productivos y en un segundo ensayo, con 36 animales (9 animales por grupo), se determinó la digestibilidad de la dieta. En ambos ensayos se procedió a una restricción de agua, con un grupo de control (AC), con acceso permanente y tres diferentes niveles de acceso: 3 horas/día por la mañana (A3M), de 9:00 a 12:00h; 3h/día por la tarde (A3T), de 18:00 a 21:00h y 6h/día (A6M), de 9:00 a 15:00h. Los conejos se controlan desde los 35 días (edad del destete) a los 57 días de edad (final de restricción) y se monitorizaron semanalmente el peso vivo individual y el consumo de alimentos por jaula. Sólo la ganancia diaria de peso fue significativamente afectada por la restricción de agua ($P < 0,05$), con una disminución del 23% en A3M con respecto al control. En los tratamientos A3T y A6M también disminuyeron el peso de los conejos, pero sin efecto significativo. La restricción del tiempo de acceso a agua de A3M, A3T y A6M ha inducido una ingestión de alimentos de 87%, 85% y 86% del nivel *ad libitum*, respectivamente. El índice de conversión mejoró, pero sin efecto significativo ($P > 0,05$). No se ha observado ningún efecto de los tratamientos sobre la mortalidad y la morbilidad y la digestibilidad de la dieta no ha sufrido alteraciones.

Palabras clave: conejos, restricción de agua, rendimientos, digestibilidad.

Abstract

The aim of this work was to study the productive performance and digestibility of nutrients of fattening rabbits, subject to different times of water availability. In the first trial, we controlled 144 hybrids (NZ x C) rabbits of both sexes, divided into four groups (36 animals in each group) to determine the productive performances. In the second trial we worked with 36 animals (9 animals in each group) to determine the diet digestibility. In both trials, we proceeded to a water restriction comparatively to a control treatment (C) with permanent access and three different times of access: 3h/day during morning (A3M; 9:00 to 12:00h); 3h/day during evening (A3T; 18:00 to 21:00h) and 6h/day (A6M; 9:00 to 15:00h). The rabbits were controlled from 35 days (weaning age) to 57 days, and the individual animal weight and food consumption were monitored weekly to determine productive performances. During weighing the rabbits were observed to determine morbidity. Daily weight gain was significantly affected by water restriction ($P < 0.05$), with a decrease of 23% for A3M. The A3T and A6M treatments also decreased 16% and 10% compared with the control group, but without significant effect. Despite this differential growth, final body weight was not significantly affected by the treatment. A restricted access to drinking water of A3M, A3T and A6M induced feed restriction in growing rabbits to 87%, 85% and 86% of the *ad libitum* level ($P > 0.05$), respectively, but without significant effect. Feed conversion ratio were only improved with hydric restriction in A6M, but no significant effect ($P > 0.05$). No effects of treatments on mortality and morbidity were observed and the digestibility of the diet was also not affected.

Keywords: Rabbits, water restriction, performance, digestibility.

Introdução

A cunicultura intensiva atual enfrenta alguns problemas relacionados com a elevada mortalidade no período pós-desmame (Bergaoui *et al.*, 2008) que se agravaram com o surgimento da enteropatia mucóide. A restrição alimentar neste período é uma prática comum para reduzir as elevadas taxas de mortalidade e morbidade associadas a desordens digestivas (Boisot *et al.*, 2004). A aplicação de uma restrição alimentar tem várias vantagens, pois melhora a eficiência alimentar (Yakubu *et al.*, 2007; Taha *et al.*, 2014), induz o crescimento compensatório (Yakubu *et al.*, 2007) pode melhorar a digestibilidade da dieta (Abdel-Wareth *et al.*, 2015) e reduz a incidência da enteropatia mucóide (Bergaoui *et al.*, 2008; Boisot *et al.*, 2004). Todavia, nem sempre são observados estes resultados e encontramos alguma divergência, possivelmente influenciados pelo tipo e duração da restrição, alimentação, idade, entre outros.

Nem todas as explorações cunícolas têm a capacidade de realizar restrição alimentar, dependendo do grau de mecanização, sendo mais fácil controlar a distribuição de água. Está reconhecido que este é um método indireto para reduzir o consumo de alimento no período pós-desmame (Pinheiro *et al.*, 2012; Bovera *et al.*, 2013).

Materiais e métodos

O trabalho foi realizado na Unidade Experimental de Cunicultura da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD) em Vila Real, Portugal. Os animais foram manuseados de acordo com as exigências de bem-estar animal (Decreto Lei nº 81/2013). Nos ensaios foram utilizados 180 coelhos híbridos (144 referentes ao ensaio da engorda; 36 animais por grupo com 9 réplicas e 36 ao ensaio da digestibilidade; 9 animais por grupo), resultantes do cruzamento de coelhos das raças Californiana e Neozelandês (CxNz) de ambos os sexos. O trabalho experimental teve a duração de 3 semanas, com início ao desmame (35 dias de idade) e término aos 57 dias de idade e foram efectuados os 4 tratamentos estabelecidos e apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Esquema da disponibilidade de água de acordo com os tratamentos aplicados.

| Tratamento | 24:00h | 6:00h | 9:00h | 12:00h | 15:00h | 18:00h | 21:00h | 24:00h |
|------------|-------------------------|-------|---------------|--------|--------|---------------|--------|--------|
| AC | [Barra contínua de 24h] | | | | | | | |
| A3M | | | [Barra de 3h] | | | | | |
| A6M | | | [Barra de 6h] | | | | | |
| A3T | | | | | | [Barra de 3h] | | |

AC – Tratamento Controlo – água *ad libitum*; A3M – tratamento com disponibilidade de água 3 horas por dia no período da manhã (das 9:00 às 12:00h); A6M – tratamento com disponibilidade de água 6 horas por dia no período da manhã e tarde (das 9:00 às 15:00h); A3T – tratamento com disponibilidade de água 3 horas por dia no período da tarde (das 18:00 às 21:00h).

O alimento comercial, suplementado com substâncias medicamentosas, foi distribuído *ad libitum* durante todo o ensaio, mas o acesso à água foi limitado de acordo com os tratamentos.

O peso dos comedouros e o peso vivo dos animais foram controlados semanalmente para determinar o ganho médio diário de peso vivo (GMD), a ingestão média diária de alimento (IMD) e o índice de conversão alimentar (IC).

O ensaio de digestibilidade foi realizado na terceira semana, após 10 dias de adaptação à dieta, com recolhas de fezes durante 4 dias seguidos, de acordo com o método de referência (Perez *et al.*, 1995).

Na análise estatística dos dados recorreu-se ao programa JMP (5.01), para realizar uma análise de variância (ANOVA), sendo o tratamento o fator de variação. A comparação múltipla de médias foi realizada através do teste de Tukey.

Resultados e discussão

Os resultados das performances são apresentados na **Tabela 2**. O PV não mostrou diferenças significativas ($P=0,214$), apesar de no grupo controlo ser superior (7%) em relação aos restantes. Taha *et al.* (2014) também não encontraram diferenças significativas em animais com acesso à água 3h/dia, em relação ao grupo controlo (24h/dia).

O GMD do grupo AC (49,4 g/dia) foi significativamente superior ($P=0,04$) ao do grupo A3M (40,3 g/dia), 18,4% menor. Nos restantes grupos, também decresceu 13,5% e 8,7% para A3T e A6M, respetivamente, sem diferenças significativas. Os resultados estão de acordo com Abdel-Wareth *et al.* (2015) que, com uma restrição alimentar próxima da do presente estudo (85%) e duração igual (21 dias), verificaram diferenças significativas. Também Bovera *et al.* (2013) constataram que os animais sujeitos à restrição de água tiveram menor GMD que o grupo controlo.

Tabela 2. Efeito da restrição de água nas performances dos coelhos.

| | Tratamento | | | | EPM ¹ | P > f |
|--------------------|------------|-------|--------|--------|------------------|--------------|
| | AC | A3M | A3T | A6M | | |
| PV inicial (g) | 948 | 989 | 950 | 961 | 11,23 | 0,544 |
| PV final (g) | 1981 | 1842 | 1849 | 1865 | 26,86 | 0,214 |
| PV final (% de AC) | 100 | 93 | 93 | 94 | - | - |
| GMD (g) | 49,4a | 40,3b | 42,7ab | 45,1ab | 1,19 | 0,040 |
| GMD (%) | 100 | 82 | 86 | 91 | - | - |
| IMD (g/d) | 131,5 | 114,6 | 111,3 | 112,7 | 3,17 | 0,078 |
| IMD (% de AC) | 100 | 87 | 85 | 86 | - | - |
| IC | 2,6 | 2,7 | 2,8 | 2,7 | 0,05 | 0,606 |
| IC (% de AC) | 100 | 104 | 108 | 104 | - | - |

Valores na mesma linha com letras diferentes diferem significativamente ($P<0,05$).

¹ EPM: erro padrão da média.

No período total de restrição, apesar de não ser significativo, verifica-se uma tendência ($P=0,0781$) para uma IMD superior nos animais do tratamento controlo, em relação aos animais dos restantes tratamentos (87%, 85% e 86% para A3M, A3T e A6M respectivamente, em relação ao AC). Boisot *et al.* (2004), num ensaio desde o desmame (32 dias) aos 53 dias de idade efetuaram uma restrição a 3h/dia e verificaram haver diferenças significativas, com o grupo com restrição a consumir 85% do nível *ad libitum*, valor muito semelhante ao do presente trabalho. Do mesmo modo, Taha *et al.* (2014) verificaram que nos grupos com disponibilidade de água de 2h/dia e 3h/dia, o consumo de alimento foi inferior ao do grupo controlo. Uma ingestão de 75% e 80% do nível *ad libitum* foi também observada por Rayana *et al.* (2008), com tempos de acesso à água de 2h/dia e 4h/dia, respetivamente. Num ensaio com 3 grupos com acesso à água de 1h30, 2h30 e 4h por dia, Verdelhan *et al.* (2004) verificaram uma diminuição da ingestão de alimento para 78%, 83% e 87%.

Os valores do índice de conversão nos grupos com restrição de água são muito semelhantes ao do grupo controlo e não se verificaram efeitos significativos, tal como no ensaio de Gualterio *et al.* (2008), com acesso à água de 4h por dia.

No nosso ensaio a taxa de mortalidade foi de 4,9% e a de morbilidade de 18,8%, sem diferenças significativas entre os tratamentos, tal como observado por Verdelhan *et al.* (2004). Todavia, Bovera *et al.* (2013) observaram maior mortalidade no grupo controlo enquanto que Rayana *et al.* (2008) já verificaram maior mortalidade num dos grupos restringidos.

Da análise da **Tabela 3**, podemos observar que não se verificaram efeitos significativos ($P> 0,05$) para a digestibilidade aparente dos diferentes parâmetros avaliados. Apesar disso, observamos uma ligeira melhoria da digestibilidade quando foi efetuada a restrição de água. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Gidenne e Feugier (2009), que também não encontraram diferenças significativas para níveis de ingestão de 80, 70 e 60% do nível *ad libitum*. Da mesma forma, Diaz Arca *et al.* (1999) verificaram não haver diferenças significativas nos resultados obtidos, para níveis de ingestão de 60% e 40% do nível *ad libitum*. Todavia, diferindo, alguns autores (Bovera *et al.*, 2013), verificaram que com a restrição de água aumentou a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, NDF, ADF e celulose. As diferenças encontradas entre os diferentes ensaios podem ser devido à idade dos animais, tipo da dieta, temperatura ambiente, intensidade e duração da restrição alimentar (Diaz Arca *et al.*, 1999) e ao facto de se utilizar uma restrição hídrica para indiretamente provocar uma restrição de alimento.

Tabela 3. Efeito da restrição de água nos resultados da digestibilidade.

| (g.100-1g MS) | Tratamentos | | | | EPM ¹ | P>f |
|------------------|-------------|------|------|------|------------------|-------|
| | AC | A3M | A3T | A6M | | |
| Matéria seca | 61,3 | 63,9 | 65,7 | 62,7 | 1,23 | 0,377 |
| Matéria orgânica | 60,0 | 63,1 | 64,4 | 61,7 | 1,28 | 0,365 |
| Proteína bruta | 74,7 | 77,9 | 77,8 | 74,6 | 0,84 | 0,175 |
| Gordura bruta | 82,1 | 80,9 | 86,5 | 80,9 | 1,08 | 0,291 |
| NDF | 37,0 | 39,8 | 42,1 | 39,7 | 2,13 | 0,708 |
| ADF | 28,6 | 28,8 | 31,4 | 35,9 | 2,50 | 0,745 |
| Celulose | 34,3 | 36,3 | 38,6 | 42,5 | 2,31 | 0,663 |

¹ EPM: erro padrão da média.

A análise global dos resultados parece indicar que os níveis de restrição de água aplicados neste trabalho vão de encontro ao objetivo de reduzir indiretamente o consumo de alimento, não tendo prejudicado o crescimento e não tendo afectado o comportamento e bem-estar dos coelhos criados nestas condições. Assim, parece-nos que a restrição de água no período de engorda foi benéfica, pois foi possível produzir animais com um peso vivo semelhante, com a vantagem de reduzir os custos com a alimentação (os grupos com restrição ingeriram em média 86% do nível *ad libitum*).

Agradecimentos

Este trabalho obteve financiamento da FCT através do Projeto UID/CVT/00772/2013.

Bibliografia

- Abdel-Wareth A.A.A., Kehraus S., Ali A.H.H., Ismail Z.S.H., Sudekum K. 2015. *Effects of temporary intensive feed restriction on performance, nutrient digestibility and carcass criteria of growing male Californian rabbits*. *Archives of Animal Nutrition*, 69(1): 69-78.
- Bergaoui R., Kammoun M., Ouerdiane K. 2008. *Effects of feed restriction on the performance and carcass of growing rabbits*. *Proceeding of the 9th World Rabbit Congress, June 10-13. Verona, Italy*, pp. 547-550.
- Boisot P., Duperray J., Dugenetais X., Guyonvarch A. 2004. *Interest of hydric restriction times of 2 and 3 hours per day to induce feed restriction in growing rabbits*. *Proceeding of the 8th World Rabbit Congress, September 7-10. Puebla, Mexico*, pp. 759-764.
- Bovera F., Lestingi A., Piccolo G., Iannaccone F., Attia Y.A., Tateo A. 2013. *Effects of water restriction on growth performance, feed nutrient digestibility, carcass and meat traits of rabbits*. *Animal*, 7: 1600-1606.
- Decreto-Lei nº 81/2013, de 14 de junho. *Diário da República nº 113/2013 – 1ª série*. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa.
- Diaz Arca F., Alba L.M.P., Hernandez M.P. 1999. *Digestibility and energy retention by young rabbits fed different levels of intake*. *Annales de Zootechnie, INRA/EDP Sciences*, 48 : 289-295.
- Gidenne T., Feugier A. 2009. *Feed restriction strategy in the growing rabbit. 1. Impact on digestion, rate of passage and microbial activity*. *Animal*, 3: 501-508.
- Gualterio L., González-Redondo P., Negretti P., Finzi A. 2008. *Rationing of drinking water supply in relationship with growth and sanitary performances of growing rabbits*. *Proceeding of the 9th World Rabbit Congress, June 10-13. Verona, Italy*, pp. 959-964.

Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalle-Zotte A., Cossu M.E., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernández J., Falçao e Cunha L., Bengala Freire J. 1995. European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits. *World Rabbit Science*, 3: 41-43.

Pinheiro V., Torres S., Monteiro D., Silva S., Mourão J.L. 2012. Growth performance and behaviour of growing rabbits subjected to feed restriction. *Proceeding of the 10th World Rabbit Congress, September 3-6. Sharm El-Sheikh, Egypt*, pp. 569-573.

Rayana B., Bem Hamouda M., Bergaoui R. 2008. Effect of water restriction times of 2 and 4 hours per day on performances of growing rabbits. *Proceeding of the 9th World Rabbit Congress, June 10-13. Verona, Italy*, pp. 541 -544.

Taha A.E., Rashed R.R., Hassan S.S.A. 2014. Impact of water restriction on the productive and behavioral performance of two fattening rabbit breeds. *Global Veterinaria*, 12: 673-681.

Verdelhan S., Bourdillon A., Morel-Saives A. 2004. Effect of a limited access to water on water consumption, feed intake and growth of fattening rabbits. *Proceeding of the 8th World Rabbit Congress, September 7-10. Puebla, Mexico*, pp. 1015-1021.

Yakubu A., Salako A.E., Ladokun A.O., Adua M.M., Bature T.U.K. 2007. Effects of feed restriction on performance, carcass yield, relative organ weights and some linear body measurements of weaner rabbits. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6: 391-396.

CALIDAD DE PRODUCTOS

- Composición de ácidos grasos de la carne de conejo en función de la línea genética y la dieta

Martínez-Bas A.M., Kessler M., Marín J.J., Armero E.

- Comparación de la calidad de la carne de conejo convencional y conejo ecológico

Villora J., Martínez Miró S., Hernández F., Linares M.B., Garrido M.D.

- Estudio de la calidad de la carne en líneas de conejo seleccionadas

Garro L., Orengo J., Egea M., Madrid J., Garrido M.D.

Composición de ácidos grasos de la carne de conejo en función de la línea genética y la dieta

Composition of fatty acids of the rabbit meat in function of the genetic line and the diet

Martínez-Bas A.M.^{1*}, Kessler M.², Marín J.J.³, Armero E.¹

¹ Dept. de Agricultura, Ciencia y Tecnología. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

² Dept. de Matemáticas Aplicadas y Estadística. Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Murcia, España

³ QUIN Sociedad Cooperativa, Ctra. Vereda del Catalán, nº 62, 30162 Santa Cruz, Murcia, España

* Dirección de contacto: anamartinezbas@hotmail.com

Resumen

El efecto de dos dietas con diferentes niveles de fibra en la composición del perfil de ácidos grasos de la carne de conejo fue estimado para un total de 150 animales de tres líneas genéticas diferentes (Ebro –EB– y Grimaud –GR–, seleccionados por velocidad de crecimiento e Hyla –HY– seleccionada por aptitud maternal). Los animales fueron alimentados con una dieta control (C) (25% de fibra) y otra más energética (HE) (17% de fibra). Tras el sacrificio a las 8 y a las 12 semanas de edad analizamos el contenido nutricional de la carne de una pata trasera, obteniendo el porcentaje de grasa intramuscular y el perfil de ácidos grasos. Observamos que el contenido de grasa intramuscular desciende conforme avanza la edad, al igual que desciende el ratio omega 6/omega 3 ($P < 0,05$). La línea de aptitud maternal (HY) presenta diferencias significativas respecto a EB y GR en el contenido de PUFA a las 12 semanas, siendo mayor su concentración de estos ácidos grasos. Respecto a las dos dietas, hay diferencias en el ácido palmítico (C16:0) a las 12 semanas teniendo un contenido superior los animales alimentados con la dieta HE ($28,97 \% \pm 0,05$) que los alimentados con la dieta C ($27,75 \% \pm 0,05$). Así el contenido en ácidos grasos puede ir influenciado por la edad, por la línea genética, y en menor medida por la dieta.

Palabras clave: Línea genética, dieta, ácidos grasos, grasa intramuscular.

Abstract

The effect of two diets with different fiber levels on the composition of the fat profile of the rabbit meat was estimated for a total of 150 animals from three different genetic lines (Ebro –EB– and Grimaud –GR–, selection by growth rate and Hyla –HY– selected by maternal aptitude). The animals were fed a control diet (C) (25% fiber) and another with energy level (HE) (17% fiber). After slaughter at 8 and 12 weeks of age, it analyzes the nutritional content of the meat of a hind leg, obtaining the percentage of intramuscular fat and the profile of fatty acids. We observed that the intramuscular fat content decreased according to age, as did the omega 6/omega 3 ratio ($P < 0.05$). The maternal aptitude line (HY) presents significant differences respect to EB and GR in the PUFA content at 12 weeks, with a higher concentration of these fatty acids. With respect to both diets, there is differences in palmitic acid (C16: 0) at 12 weeks with a higher content of animals fed with the HE diet ($28.97\% \pm 0.05$) than foods with C diet ($27.75\% \pm 0.05$). Thus the fat content can be influenced by the age, by the genetic line, and to a lesser extent by the diet.

Keywords: Genetic line, diet, fatty acids, intramuscular fat.

Introducción

La carne de conejo es muy apreciada por su composición nutricional y sus propiedades dietéticas. Es recomendada en dietas bajas en colesterol, ya que previene enfermedades o trastornos cardiovasculares. Según McCance and Widdowson's (2002) que comparan los principales ácidos grasos contenidos en distintos tipos

de carne, la carne de conejo es más rica en ácido linoleico (C18:2n6) que otras carnes como vacuno, ovino, cerdo y pollo. Este ácido destaca en su papel antioxidante contra el ataque de la membrana por radicales libres y mejora los lípidos sanguíneos mediante la reducción de los triglicéridos y el colesterol (FAO, 2012).

Nuestro objetivo es definir y comparar el perfil de ácidos grasos a las 8 y 12 semanas de edad de conejos de tres líneas genéticas diferentes (Grimaud y Ebro, seleccionadas por velocidad de crecimiento e Hyla seleccionada por prolificidad) alimentadas por dos dietas, una control y una dieta más energética.

Material y métodos

De los 2294 animales procedentes del cruzamiento de la hembra Hyla con machos terminales de tres líneas genéticas (Grimaud = GR, Ebro = EB e Hyla = HY) se guardó la muestra de la carne de la pata y se analizó la composición química de 660 muestras del músculo de la misma, obteniendo entre otros parámetros el porcentaje de grasa intramuscular (ISO 1443). También se analizó el perfil de ácidos grasos de 150 muestras, 25 muestras por cada línea genética, dieta (Control = C y Altamente energética = HE) (**Tabla 1**) y edad de sacrificio (8 semanas y 12 semanas). El protocolo de extracción de ácidos grasos fue el seguido por O'Fallon *et al.* (2007) que consiste en un método directo para la síntesis de ésteres metílicos de ácidos grasos a partir de tejidos cárnicos.

Tabla 1. Composición nutricional de los dos tipos de dieta que utilizamos.

| Composición nutricional | Dieta C | Dieta HE |
|---------------------------------|---------|----------|
| Materia Seca (%) | 89 | 89 |
| Proteína Bruta (%MS) | 15 | 16 |
| Grasa Bruta (%MS) | 2,5 | 3 |
| Fibra Bruta (%MS) | 25 | 17 |
| Almidón (%MS) | 11 | 12 |
| Fibra Ácido Detergente (%MS) | 25 | 22 |
| Fibra Neutro Detergente (%MS) | 40 | 35 |
| Cenizas (%MS) | 11 | 11 |
| Energía Metabolizable (Kcal/kg) | 2100 | 2400 |

C: dieta control. HE: dieta High Energy.

Los resultados fueron analizados con el procedimiento GLM (R Statistical; R Core Team, 2016). Los diferentes ácidos grasos fueron analizados con el modelo que incluía la línea genética y el tipo dieta como efectos fijos, ya que era el modelo que presentaba el menor valor de AIC. Las interacciones no fueron significativas. A partir de este modelo se obtuvieron las medias mínimo cuadráticas que fueron comparadas mediante un test t-Student, considerando que eran diferentes para un nivel de significación $P < 0,05$.

Resultados y discusión

El efecto de la línea genética en el perfil de ácidos grasos para la semana 8 (**Tabla 2**) muestra que Grimaud (GR) es diferente a Hyla (HY) y Ebro (EB) en el contenido de ácidos grasos insaturados, mientras que a la semana 12 (**Tabla 3**) los resultados varían, siendo la línea de aptitud maternal (HY) diferente significativamente a las dos líneas mejoradas por velocidad de crecimiento (EB y GR).

El sumatorio de ácidos insaturados muestra que a la semana 12, HY tiene mayores niveles que EB y GR. Carrilho *et al.* (2009) obtuvo resultados similares en Hyla con edades entre 35 y 85 días de edad. Hernández *et al.* (2008) explica que estos cambios en la composición de ácidos grasos tanto en la carne como en la grasa de conejo pueden estar afectados por la selección por la tasa de crecimiento.

De acuerdo con nuestros resultados, el contenido en omega 6 (n-6) es mayor a las 8 semanas que a las 12 semanas porque existe una relación directa con el periodo de lactancia. Así conejos con edades próximas al destete tienen mayor contenido de n-6 debido a que la composición de la dieta de las madres durante el periodo de lactancia es rica en cereales con alto contenido en ácidos omega 6. Consecuentemente, el ratio

n6-n3 desciende significativamente con la edad de acuerdo con nuestros resultados. Según Combes (2004) el descenso del contenido en n-6 es relativamente estable en la carne de conejo (c.v.=15%), mientras que el contenido en n-3 es susceptible de grandes variaciones (c.v.=45%).

A la semana 12 el ácido palmítico (C16:0) presenta diferencias significativas según la dieta (**Tabla 3**), siendo mayor el contenido de C16:0 en conejos alimentados con la dieta más energética (HE); ya que los diferentes niveles de fibra provocan una pequeña modificación del porcentaje de ácidos grasos en carne de conejo con pesos comerciales entre 2 y 2,5 kg (Cobos et al., 1995). A menor contenido en fibra y más niveles de energía en la dieta se desarrolla más cantidad de ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0) y ácido esteárico (C18:0). De acuerdo con Carrilho et al. (2009) que estudiaron el efecto de tres dietas con diferentes niveles energéticos en la composición del perfil de ácidos grasos y encontraron diferencias moderadas en el desarrollo de los ácidos grasos en relación con los niveles energéticos de la dieta.

Tabla 2. Composición de grasa intramuscular (%) y composición de ácidos grasos (%) en la grasa intramuscular en la carne de la pata según la línea genética y la dieta a las 8 semanas. (Media mínimo cuadrática ± error estándar).

| Ác. graso | EB | | GR | | HY | | C | | HE | |
|-----------------------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | MMC | ES |
| % grasa intramuscular | 3,301a | 0,838 | 3,172a | 0,851 | 3,423a | 0,835 | 3,243y | 0,833 | 3,354y | 0,851 |
| C8:0 | 0,054a | 0,001 | 0,048a | 0,005 | 0,032a | 0,009 | 0,041y | 0,001 | 0,049y | 0,004 |
| C10:0 | 0,819a | 0,024 | 0,829a | 0,022 | 0,692a | 0,032 | 0,796y | 0,025 | 0,765y | 0,021 |
| C12:0 | 0,871a | 0,031 | 0,841a | 0,035 | 0,817a | 0,054 | 0,851y | 0,055 | 0,836y | 0,054 |
| C14:0 | 2,661a | 0,350 | 3,198a | 0,420 | 2,697a | 0,220 | 2,837y | 0,240 | 2,867y | 0,350 |
| C15:0 | 0,725a | 0,010 | 0,837a | 0,058 | 0,794a | 0,085 | 0,799y | 0,055 | 0,773y | 0,064 |
| C16:0 | 28,023a | 0,050 | 28,673b | 0,045 | 26,559c | 0,056 | 27,687y | 0,054 | 27,817y | 0,330 |
| C17:0 | 0,725a | 0,052 | 0,834a | 0,060 | 0,760a | 0,054 | 0,772y | 0,042 | 0,774y | 0,035 |
| C18:0 | 7,841a | 0,088 | 8,469b | 0,078 | 8,201c | 0,031 | 8,066y | 0,410 | 8,275y | 0,055 |
| C20:0 | 0,060a | 0,001 | 0,102b | 0,000 | 0,098b | 0,012 | 0,910y | 0,021 | 0,083z | 0,022 |
| C22:0 | 0,000a | 0,090 | 0,002b | 0,012 | 0,003a | 0,090 | 0,000y | 0,001 | 0,003z | 0,000 |
| C24:0 | 0,001a | 0,001 | 0,003a | 0,002 | 0,003a | 0,001 | 0,001y | 0,000 | 0,002y | 0,001 |
| C14:1n5 | 0,010a | 0,010 | 0,095b | 0,020 | 0,044ab | 0,030 | 0,048y | 0,031 | 0,051y | 0,012 |
| C15:1n5 | 0,224a | 0,580 | 0,028a | 0,057 | 0,026a | 0,054 | 0,056y | 0,012 | 0,099y | 0,009 |
| C16:1n7 | 1,778a | 0,050 | 2,75b | 0,070 | 1,994ab | 0,080 | 2,259y | 0,570 | 2,089y | 0,788 |
| C17:1n7 | 0,033a | 0,670 | 0,182a | 0,045 | 0,137a | 0,031 | 0,112y | 0,012 | 0,123y | 0,015 |
| C18:1n9 | 24,236a | 1,200 | 23,389a | 0,980 | 24,361a | 0,770 | 23,864y | 0,350 | 24,127y | 0,250 |
| C20:1n9 | 0,144a | 0,020 | 0,264b | 0,010 | 0,236b | 0,020 | 0,190y | 0,008 | 0,239z | 0,008 |
| C22:1n9 | 0,037a | 0,001 | 0,094b | 0,020 | 0,088b | 0,005 | 0,069y | 0,018 | 0,077y | 0,017 |
| C24:1n9 | 0,002a | 0,001 | 0,004a | 0,002 | 0,008b | 0,003 | 0,005y | 0,001 | 0,004y | 0,002 |
| C18:2n6 | 24,684a | 0,320 | 21,879b | 0,870 | 25,066a | 0,450 | 24,083y | 0,950 | 23,669y | 0,894 |
| C18:3n6 | 0,001a | 0,010 | 0,033a | 0,005 | 0,009a | 0,009 | 0,015y | 0,008 | 0,013y | 0,004 |
| C18:3n3 | 1,642a | 0,980 | 1,673a | 0,870 | 1,631a | 0,880 | 1,748y | 0,680 | 1,549y | 0,540 |
| C20:3n6 | 0,077a | 0,030 | 0,217a | 0,050 | 0,218a | 0,050 | 0,187y | 0,010 | 0,155y | 0,030 |
| C20:4n6 | 2,459a | 0,120 | 2,403a | 0,130 | 2,636a | 0,110 | 2,659y | 0,210 | 2,339y | 0,230 |
| C20:5n3 | 0,001a | 0,001 | 0,005a | 0,001 | 0,004a | 0,001 | 0,003y | 0,004 | 0,002z | 0,000 |
| C22:6n3 | 0,029a | 0,009 | 0,049a | 0,008 | 0,102b | 0,005 | 0,044y | 0,012 | 0,059y | 0,022 |
| Σ Saturado | 42,118a | 0,755 | 44,054a | 0,768 | 40,739a | 0,656 | 42,933y | 0,929 | 42,497y | 0,960 |
| Σ Insaturado | 55,357a | 0,890 | 53,065b | 0,789 | 56,560a | 0,854 | 55,342y | 2,876 | 54,595y | 2,821 |
| Σ Sat/Insat | 0,760a | 0,848 | 0,830a | 0,974 | 0,721a | 0,768 | 0,776y | 0,323 | 1,530y | 0,340 |
| Σ Omega 6 | 27,221a | 0,650 | 24,532a | 0,661 | 27,929a | 0,432 | 26,944y | 1,178 | 26,176y | 1,158 |
| Σ Omega 3 | 1,672a | 0,084 | 1,727a | 0,090 | 1,737a | 0,005 | 1,795y | 0,696 | 1,610y | 0,562 |
| Σ n6/n3 | 16,280a | 3,210 | 14,205a | 2,210 | 16,079a | 1,250 | 15,011y | 1,693 | 16,258y | 2,060 |

Línea genética: EB - Ebro, GR - Grimaud, HY - Hyla. Dieta: HE - High energy diet, C - Control diet. a, b, c = diferentes letras dentro de la fila representan diferencias entre líneas genéticas. y, z = diferentes letras dentro de la fila representan diferencias entre dietas.

Estos ácidos grasos saturados según la FAO (2012) afectan de manera diferente a las concentraciones de colesterol; C14:0 y C16:0 incrementan el colesterol de las LDL, mientras que C18:0 no tiene este efecto.

Respecto al ratio n6/n3 tanto en la semana 8 (Tabla 2) como en la semana 12 (Tabla 3), no encontramos diferencias significativas al ingerir una dieta u otra, a diferencia de Enser et al. (1998) que encontraron una elevada influencia en este ratio según la dieta en toros alimentados con dietas con diferentes niveles de fibra (15,6 vs 2,0).

Tabla 3. Composición de grasa intramuscular (%) y composición de ácidos grasos (%) en la grasa intramuscular en la carne de la pata según la línea genética y la dieta a las 12 semanas. (Media mínimo cuadrática \pm error estándar).

| Ác. graso | EB | | GR | | HY | | C | | HE | |
|-----------------------|---------|-------|---------|-------|----------|-------|---------|-------|---------|-------|
| | MMC | ES | MMC | ES | MMC | ES | MMC | ES | MMC | ES |
| % grasa intramuscular | 4,040a | 0,488 | 4,195a | 0,871 | 3,844a | 0,470 | 3,907y | 0,468 | 4,145y | 0,485 |
| C6:0 | 0,200a | 0,001 | 0,232a | 0,015 | 0,087b | 0,018 | 0,201y | 0,022 | 0,145y | 0,030 |
| C8:0 | 0,030a | 0,005 | 0,028a | 0,004 | 0,018a | 0,003 | 0,026y | 0,005 | 0,025y | 0,008 |
| C10:0 | 0,355a | 0,034 | 0,281a | 0,024 | 0,277a | 0,009 | 0,308y | 0,006 | 0,300y | 0,009 |
| C12:0 | 0,479a | 0,034 | 0,392a | 0,025 | 0,392a | 0,001 | 0,426y | 0,027 | 0,416y | 0,022 |
| C14:0 | 4,240a | 0,540 | 2,909a | 0,310 | 2,666a | 0,540 | 3,592y | 0,150 | 3,951y | 0,180 |
| C15:0 | 0,956a | 0,057 | 0,814a | 0,031 | 0,703b | 0,018 | 0,878y | 0,057 | 0,771y | 0,041 |
| C16:0 | 28,048a | 0,340 | 30,342b | 0,250 | 26,697c | 0,058 | 27,755y | 0,057 | 28,970z | 0,051 |
| C17:0 | 0,963a | 0,033 | 0,857a | 0,055 | 0,782b | 0,047 | 0,879y | 0,054 | 0,855y | 0,055 |
| C18:0 | 8,524a | 0,055 | 9,278b | 0,085 | 9,065b | 0,085 | 8,501y | 0,850 | 9,41y | 0,900 |
| C20:0 | 0,153a | 0,034 | 0,120a | 0,005 | 0,111a | 0,056 | 0,134y | 0,054 | 0,122y | 0,045 |
| C22:0 | 0,001a | 0,001 | 0,001a | 0,001 | 0,006b | 0,001 | 0,002y | 0,005 | 0,003z | 0,000 |
| C24:0 | 0,006a | 0,001 | 0,001b | 0,007 | 0,003ab | 0,008 | 0,003y | 0,009 | 0,003y | 0,001 |
| C14:1n5 | 0,443a | 0,030 | 0,166a | 0,005 | 0,222ab | 0,050 | 0,111y | 0,070 | 0,443z | 0,012 |
| C15:1n5 | 0,031a | 0,085 | 0,002a | 0,075 | 0,000a | 0,054 | 0,021y | 0,004 | 0,001y | 0,001 |
| C16:1n7 | 3,736a | 0,040 | 3,584a | 0,088 | 3,462a | 0,100 | 2,986y | 0,988 | 4,202y | 1,001 |
| C17:1n7 | 0,407a | 0,046 | 0,180b | 0,054 | 0,238b | 0,033 | 0,203y | 0,078 | 0,348y | 0,084 |
| C18:1n9 | 24,212a | 1,400 | 26,095a | 0,780 | 26,687a | 0,440 | 25,649y | 1,020 | 25,680y | 1,320 |
| C20:1n9 | 0,532a | 0,040 | 0,268b | 0,020 | 0,321ab | 0,070 | 0,257y | 0,010 | 0,490y | 0,140 |
| C22:1n9 | 0,154a | 0,020 | 0,125a | 0,040 | 0,100a | 0,068 | 0,118y | 0,020 | 0,135y | 0,050 |
| C24:1n9 | 0,001a | 0,002 | 0,001a | 0,004 | 0,004b | 0,051 | 0,001y | 0,002 | 0,001y | 0,001 |
| C18:2n6 | 17,446a | 0,230 | 18,764a | 0,880 | 21,072b | 0,055 | 20,375y | 0,785 | 17,813y | 0,854 |
| C18:3n6 | 0,002a | 0,020 | 0,054a | 0,032 | 0,011a | 0,022 | 0,021y | 0,005 | 0,017y | 0,004 |
| C18:3n3 | 2,110a | 0,780 | 0,948a | 0,770 | 2,034a | 0,077 | 1,664y | 0,440 | 1,731y | 0,540 |
| C20:3n6 | 0,171a | 0,040 | 0,117a | 0,070 | 0,189a | 0,054 | 0,149y | 0,020 | 0,169y | 0,020 |
| C20:4n6 | 1,815a | 0,210 | 2,035a | 0,310 | 2,346a | 0,210 | 2,393y | 0,880 | 1,738y | 0,742 |
| C20:5n3 | 0,000a | 0,001 | 0,002a | 0,002 | 0,011b | 0,002 | 0,006y | 0,002 | 0,003y | 0,001 |
| C22:6n3 | 0,017a | 0,010 | 0,027a | 0,010 | 0,037a | 0,008 | 0,025y | 0,011 | 0,028y | 0,009 |
| Σ Saturado | 43,955a | 1,175 | 45,255a | 0,806 | 40,807a | 0,838 | 42,705y | 1,296 | 44,971y | 1,342 |
| Σ Insaturado | 51,077a | 0,980 | 52,368a | 0,789 | 56,734b | 0,854 | 53,979y | 4,335 | 52,799y | 4,779 |
| Σ Sat/Insat | 0,861a | 1,199 | 0,865a | 1,021 | 0,720a | 0,981 | 0,792y | 0,299 | 0,852y | 0,281 |
| Σ Omega 6 | 19,434a | 0,500 | 20,970a | 1,292 | 23,618a | 0,341 | 22,938y | 1,690 | 19,737y | 1,620 |
| Σ Omega 3 | 2,127a | 0,791 | 0,977a | 0,782 | 2,082a | 0,087 | 1,695y | 0,453 | 1,762y | 0,550 |
| Σ n6/n3 | 9,137a | 0,632 | 21,464b | 1,652 | 11,344ab | 3,920 | 13,533y | 3,731 | 11,202y | 2,946 |

Línea genética: EB - Ebro, GR - Grimaud, HY - Hyla. Dieta: HE - High energy diet, C - Control diet.
a, b, c = diferentes letras dentro de la fila representan diferencias entre líneas genéticas.
y, z = diferentes letras dentro de la fila representan diferencias entre dietas.

En conclusión el contenido de grasa intramuscular incrementa durante la fase de engorde. El efecto de la línea genética se ve más pronunciado a mayor edad del conejo tanto en SFA, MUFA como PUFA. Respecto a los ácidos de mayor interés nutricional, el mayor contenido de ácido palmítico (C16:0) (que incrementa los niveles de colesterol total y LDL) es a las 12 semanas con la dieta menos fibrosa (HE).

El ratio omega 6/omega 3 desciende considerablemente conforme avanza el estado de madurez. Y no hay efecto de la línea genética, la dieta o la edad en el porcentaje de ácido oleico (C18:1n9) que conlleva niveles bajos de colesterol e incidencia reducida de las enfermedades cardiovasculares.

Agradecimientos

La realización del presente trabajo ha sido posible gracias al apoyo económico del proyecto CDTI (IDI-20120024) y al apoyo técnico de la empresa QUIN s.l.

Bibliografía

- Carrilho M.C., López M., Campo M.M. 2009. *Effect of the fattening diet on the development of the fatty acid profile in rabbits from weaning. Meat Science*, 83: 88-95.
- Cobos A., De la Hoz L., Cambero M.I., Ordoñez J.A. 1995. *Sugar beet-pulp as an alternative ingredient of barley in rabbit diets and its effect on rabbit meat. Meat Science*, 39: 113-121.
- Combes S. 2004. *Valeur nutritionnelle de la viande de lapin. Inra Productions Animales*, 17(5): 373-383.
- Enser M., Hallet K.G., Hewett B., Fursey G.A.J., Wood J.D., Harrington G. 1998. *Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. Meat Science*, 49: 329-341.
- FAO. 2012. *Estudio FAO alimentación y nutrición. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana. Consulta de expertos. 2008. Ginebra. ISBN 978-92-5-3067336.*
- Hernández P., Cesari V., Blasco A. 2008. *Effect of genetic rabbit line on lipid content, lipolytic activities and fatty acid composition of hind leg meat and perirenal fat. Meat Science*, 78: 485-491.
- McCance and Widdowson's. 2002. *The Composition of Foods, Sixth summary edition. Food Standards Agency. Cambridge: Royal Society of Chemistry. ISBN 0-85404-428-0.*
- O'Fallon J.V., Busboom J.R., Nelson M.L., Gaskins C.T. 2007. *A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs. Journal Animal Science*, 85: 1511-1521.
- R Core Team. 2016. *R: A language and environment for statistical computing. R 400 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL. <https://www.R401 project.org/>.*

Comparación de la calidad de la carne de conejo convencional y conejo ecológico

Comparison of the quality of conventional rabbit meat and ecological rabbit

Villora J.¹, Martínez Miró S.^{2*}, Hernández F.², Linares M.B.², Garrido M.D.¹

¹ Dept. Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España

² Dept. Producción Animal, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España

* Dirección de contacto: silviamm@um.es

Resumen

Este trabajo realiza un estudio comparativo de la calidad de la carne procedente de conejo ecológico frente a la del conejo convencional. Las canales fueron adquiridas tras el sacrificio de los animales. Encontramos una menor luminosidad ($P<0,001$) junto a una coloración más oscura en las carnes ecológicas ($P<0,05$). Además, en estas canales se encontró una mayor capacidad de retención de agua ($P<0,001$). Respecto a la textura instrumental, en la carne ecológica se observó menor dureza ($P<0,001$), gomosidad y masticabilidad, si bien estos últimos parámetros no fueron significativos. En el análisis sensorial, la carne ecológica presentó un olor ($P<0,001$) y sabor/flavor propios más intensos ($P<0,05$) que la de conejo convencional. Además y en consonancia con los resultados anteriores, en el panel sensorial la carne ecológica presentó menor dureza ($P<0,001$) y fibrosidad ($P<0,01$) respecto a la carne de conejo convencional, diferencias debidas a los diferentes sistemas de crianza.

Palabras clave: conejo, ecológico, carne, producción orgánica.

Abstract

This is a comparative study of the quality of organic meat versus that of the conventional rabbit. The meat was acquired after the slaughter of the animals. Organic cuniculture produced more redness ($P<0.05$), darker ($P<0.001$) and higher water holding capacity meat ($P<0.001$) than conventional rabbit. Softer and more cohesive meat is obtained in organic production. Organic rabbit meat possess more intensity of smell ($P<0.001$) and own flavour ($P<0.05$) of the species. In addition less hard ($P<0.001$) and less fibrous ($P<0.01$) meat was obtained in the ecological meat. These differences were due to different breeding systems.

Keywords: rabbit, ecological, meat, organic system.

Introducción

La sociedad actual presenta una clara tendencia por la alimentación natural donde predominen los productos libres de aditivos y de cualquier sustancia química que provenga de alguna fuente artificial. Los productos ecológicos cumplen las expectativas de esas personas preocupadas por su alimentación, ya que son vistos como los alimentos más naturales y relacionados, muchas veces, a productos de mayor calidad nutritiva y sobre todo sensorial. Por ello, la ganadería ecológica ha experimentado en los últimos años un crecimiento significativo, y en este sentido, la cunicultura ecológica también ha contribuido a ello.

La cría de conejo ecológico se rige por el Reglamento 834/2007 y el Reglamento 889/2008, y se caracteriza por tener sistemas productivos más extensivos, lo que origina intervalos entre partos de mayor longitud, cebos de mayor duración, y sacrificios de los animales con mayor edad. Estas diferencias, entre otras, pueden repercutir en la calidad de la carne de los animales, como de hecho se ha mostrado en la carne de pollo (Castellini *et al.*, 2002; Eleroglu *et al.*, 2013) y cerdo (Hansen *et al.*, 2006; Olsson *et al.*, 2003) o corderos (Bjorklund *et al.*, 2014). Respecto a la carne de conejos, si bien hay pocos trabajos realizados, se han encontrado algunas diferencias en parámetros de la canal y de la carne (Pla, 2008).

Por ello, el objetivo de este trabajo fue comparar la calidad de la carne de conejo criado en régimen intensivo según la forma de cría convencional y conejo criado siguiendo las pautas de la ganadería ecológica, desde el punto de vista de la tecnología alimentaria y dirigiéndose al momento de adquisición o compra por parte del consumidor.

Material y métodos

Se utilizaron las canales de 6 conejos criados en una granja industrial siguiendo un sistema de producción semi-intensivo (grupo control), y otras 6 procedentes de conejos ecológicos (grupo ecológico) criados en régimen extensivo siguiendo las pautas impuestas por la legislación para dicho sistema de producción. Los conejos convencionales fueron alimentados con pienso comercial de cebo a partir del día 48 de vida, cuando se destetaron. Se sacrificaron a los 60 días de vida en un matadero industrial, y posteriormente se refrigeraron durante 24 h.

Los animales ecológicos fueron criados en una granja certificada como ecológica, alimentados con piensos ecológicos procedentes de agricultura ecológica y de pastos naturales y destetados a los 60 días de vida. El sacrificio de los animales se llevó a cabo a los 90 días de vida en un matadero industrial y las canales fueron refrigeradas durante 24 horas.

Tras la pesada de las canales, se procedió a la extracción de los músculos *Longissimus dorsi* (LD). El derecho fue envasado al vacío y congelado a una temperatura de -18°C hasta realizar el análisis sensorial de olor, sabor/flavor y textura. Sobre el músculo LD izquierdo se realizaron los análisis de pH, y color, de acuerdo al sistema CIElab (Commission Internationale de l'Eclairage, CIE, 1976) y a continuación se realizaron los análisis de pérdidas por cocción y la capacidad de retención de agua (CRA) por presión (Grau y Hamm, 1953) y el perfil de textura con un texturómetro QTS-25 (Brookfield CNS Farnell, Borehamwood, Hertfordshire, England).

Los datos se trataron estadísticamente con el programa IBM SPSS Statistics (v.15, 2006).

Resultados y discusión

Los resultados de los parámetros físico-químicos se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Parámetros de calidad físico-químicos en función del tipo de animal.

| Grupo | pH | Color | | | Capacidad retención agua (CRA) | Pérdidas por cocción |
|-----------|-----------|------------|-----------|-------|--------------------------------|----------------------|
| | | L | a | b | | |
| Control | 5,58±0,16 | 55,37±1,90 | 3,92±1,37 | -0,58 | 80,99±3,75 | 25,15±0,71 |
| Ecológico | 5,71±0,11 | 47,71±3,34 | 6,26±1,52 | -0,47 | 90,43±3,55 | 23,16±0,17 |
| P-value | ns | *** | *** | * | *** | ns |

*: P<0,05;***: P<0,001; ns: no significativo.

No se encontraron diferencias significativas con respecto a los valores de pH intramuscular y pérdidas por cocción entre la carne de conejo industrial y ecológico (P>0,05). Respecto al color, el parámetro L fue mayor en la carne de conejos control (P<0,001) mientras que para los parámetros a y b los valores fueron mayores en la carne de conejo ecológico (P<0,001 y P<0,05 respectivamente). Por otra parte, la capacidad de retención de agua fue mayor en el conejo ecológico (P<0,001).

La menor luminosidad obtenida en la carne de conejo ecológico junto a la mayor coloración rojiza se traduce en una carne más oscura, pudiendo ser debida a la alimentación de los animales, ya que una menor ingesta calórica puede producir una carne de tono más oscuro (Crouse *et al.*, 1985). También podría deberse a la mayor edad de los conejos ecológicos, ya que durante el crecimiento hay una reducción del metabolismo oxidativo (Ouhayoun y Dalle Zotte, 1993). Además, la carne ecológica presentó una mayor

capacidad de retención de agua, lo que se podría deber al tipo de fibras que componen el músculo, ya que se ha demostrado que los músculos con mayor número de fibras rojas poseen mayor CRA, parámetro que es valorado muy positivamente por el consumidor, al tratarse de una carne que pierde menos agua y exudado durante la cocción y almacenamiento.

En cuanto al perfil de textura (**Tabla 2**), la carne de conejo ecológico presentó menor dureza ($P < 0,001$) que la carne de conejo convencional. Aunque no se observaron diferencias significativas en gomosidad, adhesividad, masticabilidad y elasticidad ($P > 0,05$) la carne de conejo ecológico presentó valores más favorables que la carne de conejo convencional. Hay que tener en cuenta que en este trabajo se pretende comparar la carne de conejo ecológico y convencional tal y como se la encuentra el consumidor, y que estos animales fueron criados bajo sistemas productivos diferentes, alimentados con dietas diferentes y sacrificados a edades diferentes, por lo que cualquiera de estos factores, o el conjunto de ellos pudo repercutir sobre estos parámetros de calidad de la carne.

Tabla 2. Parámetros de perfil de textura de la carne en función del tipo de animal.

| Grupo | Dureza | Gomosidad | Adhesividad | Cohesividad | Masticabilidad | Elasticidad |
|-----------|-------------|------------|-------------|-------------|----------------|-------------|
| Control | 30,54±10,71 | 14,09±4,15 | -0,06 | 0,50±0,05 | 51,79±13,56 | 4,18±0,56 |
| Ecológico | 18,55±7,64 | 11,65±3,21 | -0,04 | 0,58±0,07 | 45,20±13,85 | 4,22±0,59 |
| P-value | *** | ns | ns | *** | ns | ns |

***: $P < 0,001$; ns: no significativo.

En la **tabla 3 y 4** se muestra los valores obtenidos en el análisis sensorial de carne de conejo ecológico y convencional.

Tabla 3. Parámetros sensoriales de olor y sabor/flavor en función del tipo de animal.

| Grupo | Olor | | | Sabor/Flavor | | | |
|-----------|-----------|------------|-----------|--------------|------------|-----------|-----------|
| | Propio | Hígado/met | Otros | Propio | Hígado/met | Ácido | Otros |
| Control | 5,11±0,52 | 1,69±0,62 | 1,02±1,66 | 4,75±0,55 | 2,52±0,77 | 1 | 1 |
| Ecológico | 6,22±0,54 | 1,58±0,69 | 2,16±1,12 | 5,41±1,27 | 2,16±0,87 | 1,27±0,45 | 1,55±0,73 |
| P-value | *** | ns | *** | * | ns | *** | *** |

Met. Sabor metálico. *: $P < 0,05$; ***: $P < 0,001$; ns: no significativo.

El análisis sensorial es el punto de mayor importancia, pues es el que determinará la menor o mayor aceptación del consumidor. Así, el análisis sensorial demostró que la carne de conejo ecológico poseía mayor intensidad de olor y sabor/flavor propios ($P < 0,001$ y $P < 0,05$, respectivamente). También fueron detectados un olor y sabor clasificados como a "frutos secos" y "especias" en la carne de conejo ecológico ($P < 0,001$). Destacar la menor dureza ($P < 0,001$) y fibrosidad ($P < 0,01$) de la carne de conejo ecológico (Tabla 4), resultados que coinciden con los de Pla (2008) y puede ser debida a la mayor edad de sacrificio de los conejos ecológicos (Gondret *et al.*, 1998), sin embargo debido a los diferentes sistemas de crianza en los que se han obtenido las canales de ambos animales, otros factores podrían estar afectando. No obstante, el consumidor muestra una clara preferencia hacia carnes de menor dureza y fibrosidad al relacionarlas con carnes de mejor calidad.

Tabla 4. Parámetros sensoriales de textura en función del tipo de animal.

| Grupo | Jugosidad | Dureza | Fibrosidad |
|-----------|-----------|-----------|------------|
| Control | 3,11±0,57 | 4,05±0,98 | 2,82±1,20 |
| Ecológico | 3,41±0,93 | 2,75±0,96 | 2,05±0,71 |
| P-value | ns | *** | ** |

** : $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$; ns: no significativo.

En definitiva, la carne de conejo ecológica posee mejores características de color, sabor y textura, así como mejores características sensoriales que el conejo convencional desde el punto de vista del consumidor.

Bibliografía

- Bjorklund E.A., Heins B.J., Di Costanzo A., Chester-Jones H. 2014. Fatty acid profiles, meat quality, and sensory attributes of organic versus conventional dairy beef steers. *Journal of Dairy Science*, 97: 1828-1834.
- Castellini C., Mugnai C., Dal Bosco A. 2002. Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. *Meat Science*, 60: 219-225.
- C.I.E. Commission Internationale de l'Eclairage. 1976. 18th session. Publication 36. London.
- Crouse J.D., Cross H.R., Seideman S.C. 1985. Effects of sex condition, genotype, diet and carcass electrical stimulation on the collagen content and palatability of two bovine muscles. *Journal of Animal Science*, 60: 1228-1234.
- Eleroglu H., Yildirim A., Isikli Nursel D., Sekeroglu A., Duman M. 2013. Comparison of meat quality and fatty acid profile in slow-growing chicken genotypes fed diets supplemented with *Origanum vulgare* or *Melissa officinalis* leaves under the organic system. *Italian Journal of Animal Science*, 12: 395-403.
- Gondret F., Juin H., Mourou J., Bonneau M. 1998. Effect of age at slaughter on chemical traits and sensory quality of *Longissimus lumborum* muscle in the rabbit. *Meat Science*, 48: 181-187.
- Grau R., Hamm R. 1953. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Naturwissenschaften*, 40: 29-30.
- Hansen L.L., Claudi-Magnussen C., Jensen J.K., Andersen H.J. 2006. Effect of organic pig production system on performance and meat quality. *Meat Science*, 74: 605-615.
- Olsson V., Andersson K., Hansson I., Lundstrom K. 2003. Differences in meat quality between organically and conventionally produced pigs. *Meat Science*, 64: 287-97.
- Ouhayoun J., Dalle Zotte A. 1993. Muscular energy metabolism and related traits in rabbit. A review. *World Rabbit Science*, 1: 97-108.
- Pla M. 2008. A comparison of the carcass traits and meat quality of conventionally and organically produced rabbits. *Livestock Science*, 115: 1-12.
- Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) nº 2092/91. *Diario Oficial*, L 189: 1-23.
- Reglamento (CE) nº 889/2008 de la Comisión, de 5 de septiembre de 2008, por el que se establecen disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos, con respecto a la producción ecológica, su etiquetado y su control. *Diario Oficial* L 250: 1-84.
- SPSS 15.0. 2006. *Statistical Package for the Social Sciences*. Chicago: SPSS Inc.

Estudio de la calidad de la carne en líneas de conejo seleccionadas

Comparison of meat quality between rabbit lines selected for different traits

Garro L.^{1*}, Orengo J.², Egea M.¹, Madrid J.², Garrido M.D.¹

¹ Dept. de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia

² Dept. Producción Animal, Campus de Espinardo, Universidad de Murcia, 30100 Murcia, España

*Dirección de contacto: lilianagarromellado@gmail.com

Resumen

Actualmente, el consumidor muestra una mayor preocupación por su salud, el valor nutricional y las características sensoriales de la carne. Sin embargo, la selección y el progreso genético conducen a que los conejos sean sacrificados a edades más tempranas para un mismo peso comercial, lo cual podría afectar a las características de la carne. En este estudio se analizó la calidad de la carne de conejo de dos líneas seleccionadas por diferentes caracteres: tamaño de camada (Línea Materna, LM) y velocidad de crecimiento (Línea Paterna, LP). Fueron utilizados doce animales, 6 canales por línea, empleando para el análisis ambos lomos (*Longissimus dorsi*). Se determinó color, pH, Capacidad de Retención de Agua (CRA), Pérdidas por Cocción (PC), humedad, grasa y proteína. También se llevó a cabo un Análisis de Perfil de Textura (TPA), y se evaluaron los atributos sensoriales con un panel de cata. Los resultados mostraron que no hubo diferencias en el peso de sacrificio entre ambas líneas, aunque la LP tuvo un menor desarrollo del lomo que la LM. Se observaron valores superiores de pH en la LM, así como un contenido en humedad inferior (y de proteína superior) a la de LP. Se observaron diferencias de color en los parámetros a^* y b^* , siendo superior en la LP. La CRA fue significativamente más alta en la LM, a la vez que se obtuvieron menores pérdidas por cocción en esta línea. En cuanto al análisis de textura sólo se observaron diferencias significativas en la elasticidad de la carne, y el análisis sensorial detectó diferencias en el olor propio. Los resultados de este estudio confirman la existencia de diferencias entre las líneas estudiadas que afectan a las características de la canal y de la carne.

Palabras clave: conejo, calidad de la carne, línea materna, línea paterna, cruzamiento.

Abstract

Nowadays, the consumer is worried about health, nutritional value and sensory characteristics of meat. However, the selection and genetic progress leads to rabbits slaughtered at earlier ages at the same commercial weight, which could affect to the meat characteristics. In this study, it was analyzed the quality of two rabbit meat lines selected for different characters: litter size (Maternal Line, ML) and growth rate (Terminal Sire Line, PL). Twelve animals were used in the experiment, six carcasses per line. Rabbits were dissected, and from each carcass both loins (*Longissimus dorsi*) were separated to be analysed. Colour, pH, Water Holding Capacity (WHC), cooking loss, moisture, fat and protein content were measured. Texture Profile Analysis (TPA) was used to assess the textural properties. Also, sensory attributes were evaluated by a semi-trained panel. There were no differences between both lines in live-weight at slaughter age. However, PL had a less developed loin than the other line. The pH values showed differences between lines, being higher in ML. Also, a lower moisture and higher protein percentage were found in the ML. Differences were detected in a^* and b^* colour parameters, which were higher in PL. The WHC was significantly higher in ML, whereas cooking loss was lower in this line. The TPA method showed differences in springiness, and the sensory analysis found differences in rabbit flavour. These results showed evidence that there are divergences between these lines with regards to rabbit carcass and meat quality.

Keywords: rabbit, meat quality, maternal lines, terminal sire lines, crossbreeding.

Introducción

El consumidor ya no se preocupa únicamente por alimentarse, sino también por hacerlo de forma saludable, consumiendo alimentos con alto valor nutricional, baja concentración de grasa y colesterol, atendiendo a sus propiedades organolépticas (Resurrección, 2003). El concepto de calidad de la carne está continuamente cambiando, y hoy en día el consumidor está más interesado en la salubridad de la carne, las propiedades sensoriales, la facilidad del cocinado y, a su vez, en el precio (Dalle Zotte, 2002).

Por su parte, los programas de selección en conejos se han centrado en mejorar la prolificidad y crecimiento de los animales para mejorar la eficiencia de la producción y la disminución del tiempo de cría (Dalle Zotte, 2002). Sin embargo, existen relativamente pocos estudios basados en la comparación de líneas de conejos seleccionadas por caracteres reproductivos o de crecimiento para evaluar el efecto de la selección genética en la carne de los individuos no comerciales (Pla et al., 1996; Pla et al., 1998; Ariño, 2006).

El objetivo de este estudio es la evaluación de la calidad de la carne de conejo a partir de dos líneas seleccionadas por diferentes caracteres (línea materna vs. línea paterna), así como analizar la repercusión, como respuesta indirecta a la selección, en las características de la canal y de la carne.

Material y métodos

En el estudio se utilizaron un total de 12 conejos. Los animales se escogieron aleatoriamente, 6 conejos procedentes de una línea paterna (LP) seleccionada por caracteres de crecimiento (velocidad de crecimiento durante el engorde), y otros 6 conejos de una línea materna (LM) seleccionada por caracteres reproductivos (homogeneidad del tamaño de camada al nacimiento). El origen de los animales de ambas líneas de selección fue la granja experimental de la Universidad Miguel Hernández de Orihuela, Alicante.

Los animales fueron destetados a los 28 días de edad. Durante la fase de crecimiento los conejos recibieron un pienso granulado comercial *ad libitum* (10.0 MJ ED/kg; 16.0% PB; 14.0% FB). Los conejos de ambas líneas fueron sacrificados a la edad de 63 días. En el matadero se registró el peso vivo de los animales previo al sacrificio.

Tras el sacrificio, las canales fueron refrigeradas a 4 °C durante 24 horas. Posteriormente, fueron trasladadas a la Planta Piloto de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, donde se evisceraron y se procedió a la extracción del músculo *Longissimus dorsi* de las dos medias canales de acuerdo a las prácticas recomendadas por la World Rabbit Science Association (Blasco y Ouhayoun, 1996). Se registró el peso de la canal eviscerada y de cada lomo. El lomo izquierdo de cada canal fue destinado para el análisis por duplicado de los parámetros fisicoquímicos: pH, color (coordenadas CIELab siguiendo la metodología de la Comisión Internationale de l'Éclairage-CIE, 1986), capacidad de retención de agua (CRA; según el método de Grau y Hamm, 1953), pérdidas por cocción (PC; siguiendo la metodología planteada por Nollet y Toldrá, 2009), humedad, grasa y proteína (AOAC, 1990).

A partir de las muestras del análisis de PC, se realizó el Análisis del Perfil de Textura (TPA), utilizando un texturómetro QTS-25 (Brookfield CNS Farnell, Hertfordshire, Reino Unido). Se consideraron cuatro muestras por individuo. Los parámetros analizados fueron dureza, adhesividad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y elasticidad.

Tras la preparación y cocinado de las muestras procedentes del lomo derecho, se realizó un análisis descriptivo cuantitativo (QDA) en carne cocinada (ISO 8586-1:1992, ISO 8586-2:2008). El análisis sensorial (olor, sabor, flavor y atributos de textura) fue llevado a cabo por un panel semientrenado formado por 6 catadores. La cuantificación de los atributos se realizó de acuerdo a una escala estructurada de 7 puntos de menor a mayor intensidad.

Para la comparación entre ambos grupos (LP vs. LM) se realizó una prueba T de Student para muestras independientes con el software IBM SPSS Statistics, versión 20.

Resultados y discusión

No hubo diferencias significativas entre los pesos vivos a la misma edad (**Tabla 1**). Con respecto a los porcentajes relativos de la canal y de los lomos extraídos, se encontraron diferencias entre los rendimientos de la canal y los lomos de ambas líneas, siendo superiores los valores de los porcentajes de la LM.

Tabla 1. Peso vivo y rendimiento de la canal en las líneas de conejo seleccionadas por caracteres de crecimiento (línea paterna, LP) y reproductivos (línea materna, LM).

| | LP | LM | P > f |
|--------------------|-----------------|-----------------|-------|
| Tamaño muestral, n | 6 | 6 | |
| Peso vivo 63d (g) | 1663.3 ± 109.85 | 1679.2 ± 102.20 | n.s. |
| Canal (%) | 49.5 ± 1.05 | 54.3 ± 2.00 | ** |
| Lomo izquierdo (%) | 2.5 ± 0.13 | 3.7 ± 0.32 | ** |
| Lomo derecho (%) | 2.6 ± 0.27 | 3.7 ± 0.28 | ** |

Rendimientos de la canal: porcentajes relativos de las canales evisceradas y de los lomos respecto del peso de sacrificio. Cada canal (n) fue analizada por unidad de muestra. Análisis: (media ± desviación estándar). n.s.: no significativo. **: $p < 0,01$.

Este resultado puede deberse a que al mismo peso de sacrificio, los conejos seleccionados por velocidad de crecimiento son más inmaduros y poseen un mayor contenido digestivo y una menor calidad de la canal (Pla et al., 1996). Además, Gómez et al. (1998) han demostrado que líneas seleccionadas por caracteres de crecimiento presentaban un menor ratio carne/hueso.

Los valores de pH y proteína fueron superiores en las canales de la LM, presentando diferencias respecto a los de la LP (Tabla 2). Sin embargo, el contenido en humedad fue superior en la LP. Respecto al porcentaje de grasa (expresado en peso fresco), no se encontraron diferencias significativas entre ambas líneas.

Pla et al. (1998) observaron que el pH de los conejos seleccionados por velocidad de crecimiento era superior al de los conejos seleccionados por tamaño de camada, resultado contrario al obtenido en este estudio. También, los niveles de proteína obtenidos en este estudio son algo superiores a los recogidos por otros autores (Pla et al., 1998; Pla et al., 2004); sin embargo, en estos trabajos no se encontraron diferencias significativas entre dos líneas seleccionadas por caracteres diferentes para este parámetro.

Por su parte, el contenido en humedad de este estudio se encontró dentro del rango descrito en la bibliografía (Pla et al., 2004). Los valores de humedad fueron similares a los encontrados por Pla et al. (1998) en Longissimus, donde las canales de la línea seleccionada por caracteres de crecimiento tenían mayor contenido en agua que las seleccionadas por caracteres reproductivos. Además, estos autores determinaron que el porcentaje de humedad era mayor cuanto menor era el peso de la canal, y a su vez, el contenido en grasa se veía disminuido. Por otro lado, también se ha descrito que las líneas seleccionadas por caracteres de velocidad de crecimiento contenían menos grasa que las seleccionadas por tamaño de camada, debido a que son animales con menor madurez (Pla et al., 1996; Hernández et al., 1998).

Tabla 2. Características físico-químicas y parámetros de calidad de la carne de ambas líneas de conejos seleccionadas por caracteres de crecimiento (línea paterna, LP) y reproductivos (línea materna, LM).

| | LP | LM | P > f |
|--------------------|---------------|---------------|-------|
| Tamaño muestral, n | 6 | 6 | |
| pH | 5.62 ± 0.076 | 5.74 ± 0.066 | * |
| Humedad (%) | 77.24 ± 0.382 | 75.98 ± 0.314 | ** |
| PB (%) | 22.31 ± 0.681 | 23.40 ± 0.377 | * |
| Grasa (%) | 0.50 ± 0.181 | 0.69 ± 0.219 | n.s. |
| L | 51.08 ± 2.797 | 52.36 ± 1.080 | n.s. |
| a* | 6.11 ± 0.747 | 2.55 ± 0.683 | ** |
| b* | 2.31 ± 0.746 | 1.00 ± 0.428 | * |
| CRA (%) | 77.34 ± 3.734 | 88.57 ± 3.579 | ** |
| PC (%) | 27.03 ± 1.174 | 23.22 ± 2.621 | * |

El pH, contenido en PB (proteína bruta) y grasa fueron analizados en LD por duplicado. Medidas de color con el modelo CIELab (L, a* y b*). Fueron tomadas tres muestras por individuo para la determinación de los parámetros de color. La CRA (capacidad de retención de agua) y PC (pérdidas por cocción), fueron analizados por duplicado. n.s.: no significativo. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$.

El parámetro L^* no mostró diferencias entre los valores de ambas líneas. Sin embargo se observaron diferencias significativas entre los valores de las dos líneas para a^* y b^* , siendo superior el promedio de ambos valores en la LP. Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre los valores de CRA y PC, siendo, respectivamente, superiores y menores en las canales de la LM.

La carne de conejo se caracteriza por una coloración pálida y de bajo índice de rojez (Hernández et al., 1997), con un alto grado de luminosidad según Pla et al. (1995). Sin embargo, en la LP se encontraron valores más altos de a^* (mayor rojez) en *Longissimus dorsi*, que los que determinan dichos autores, y con mayor coloración amarilla (b^*) que la determinada en la LM.

Hubo diferencias significativas en los valores de CRA entre líneas, siendo inferiores en las canales seleccionadas por velocidad de crecimiento, de acuerdo con la bibliografía (Pla et al., 1997; Piles et al., 2000; Hernández et al., 2004). Por otro lado, se puede afirmar, comparando este estudio con otros autores (Pla et al., 1998 y Ariño et al., 2006) que las PC son mayores en las canales de los conejos seleccionados por velocidad de crecimiento frente a conejos seleccionados por tamaño de camada.

Los parámetros de dureza, gomosidad, adhesividad, cohesividad y masticabilidad no mostraron diferencias entre las dos líneas (Tabla 3). Únicamente, la elasticidad presentó diferencias significativas entre ambas líneas, siendo más elástica la carne de la LM.

Tabla 3. Parámetros de textura medidos en *Longissimus dorsi* y parámetros determinados en el análisis organoléptico de ambas líneas seleccionadas por caracteres de crecimiento (línea paterna, LP) y reproductivos (línea materna, LM).

| | LP | LM | P > f |
|------------------------------|----------------|----------------|-------|
| Tamaño muestral, n | 6 | 6 | |
| Textura instrumental | | | |
| Dureza (kg m s-2) | 23.32 ± 8.319 | 17.31 ± 3.922 | n.s. |
| Gomosidad (kg m s-2) | 12.81 ± 3.367 | 10.67 ± 2.361 | n.s. |
| Adhesividad (kg m2 s-2) | -1.25 ± 0.061 | -0.05 ± 0.072 | n.s. |
| Cohesividad | 0.58 ± 0.074 | 0.61 ± 0.016 | n.s. |
| Masticabilidad (kg) | 37.32 ± 12.285 | 42.63 ± 10.323 | n.s. |
| Elasticidad | 2.91 ± 0.245 | 4.13 ± 0.533 | ** |
| Atributos sensoriales | | | |
| Olor propio | 5.7 ± 0.92 | 5.9 ± 1.04 | n.s. |
| Olor metálico | 2.1 ± 0.67 | 1.9 ± 0.43 | n.s. |
| Sabor propio | 4.2 ± 0.61 | 5.0 ± 0.46 | * |
| Sabor metálico | 3.0 ± 0.96 | 2.8 ± 0.46 | n.s. |
| Jugosidad | 3.4 ± 0.50 | 3.3 ± 0.56 | n.s. |
| Dureza | 3.7 ± 0.83 | 3.9 ± 1.00 | n.s. |
| Fibrosidad | 2.3 ± 0.39 | 2.5 ± 0.47 | n.s. |

Se analizaron cuatro muestras por individuo en el texturómetro. Cada uno de los 6 catadores probó las 6 muestras de cada línea. Los parámetros estudiados se expresan en puntuaciones dadas por el panel de cata en base a una escala de evaluación del 1 al 7 (1: no perceptible; 7: percepción muy intensa). n.s.: no significativo. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$.

Ariño (2006) evaluaron también las propiedades texturales mediante TPA en diferentes líneas de conejo, obteniendo valores similares a los de este estudio, aunque los valores de cohesividad, masticabilidad y elasticidad fueron superiores en la LM. Además, éste y otros estudios apuntan a que la carne de la LP es más tierna que la de la LM.

Respecto a los parámetros derivados del análisis sensorial por el panel de cata (Tabla 3), únicamente se encontraron diferencias significativas en el sabor propio a carne de conejo, encontrando un valor superior en la carne de la LM.

Ariño et al. (2007) observaron que la carne de las líneas seleccionadas por tamaño de camada presentaba una jugosidad similar a la de la línea seleccionada por velocidad de crecimiento. Por otro lado, Hernández et al. (2005) determinaron que la selección por velocidad de crecimiento no afectaba a las principales características de la carne como la terneza o jugosidad, pero tenía un efecto negativo en algunas características organolépticas.

En conclusión, los resultados de este estudio confirman la existencia de diferencias entre las líneas estudiadas que afectan a las características de la canal y de la carne.

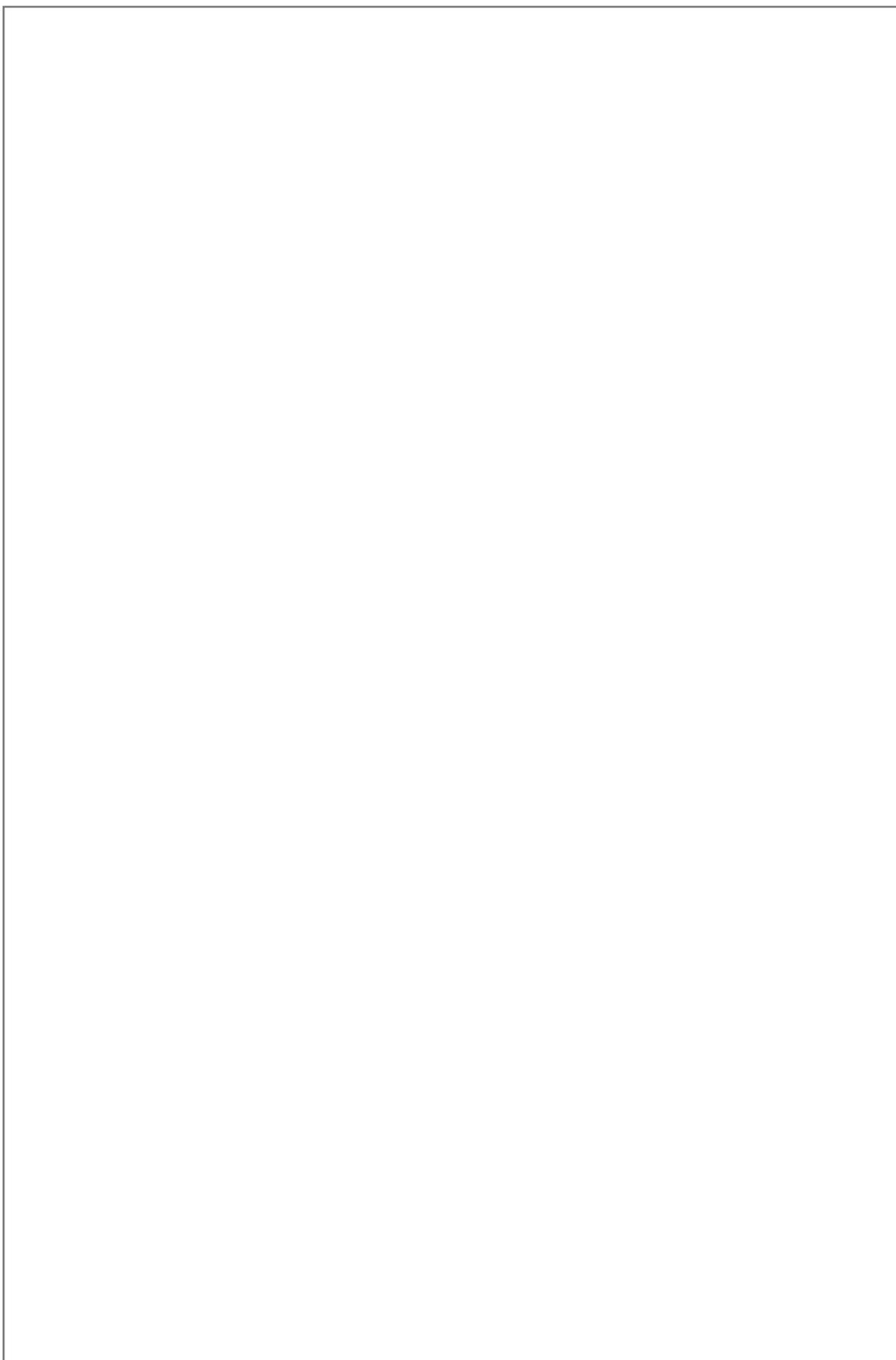
Bibliografía

- Ariño B. 2006. *Variabilidad genética de la calidad de la carne de conejo. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.*
- Ariño B., Hernández P., Pla M., Blasco A. 2007. *Comparison between rabbit lines for sensory meat quality. Meat Sci., 75: 494-198.*
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis. 15th ed. AOAC, Washington.*
- Blasco A., Ouhayoun J. 1996. *Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. World Rabbit Sci., 4: 93-94.*
- CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). 1986. *Colorimetry. 2nd ed. Vol. Publication No. CIE 15.2. Vienna, Austria, Central Bureau of the CIE.*
- Dalle Zotte A. 2002. *Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. Livest. Prod. Sci., 75: 11-32.*
- Gómez E.A., Baselga M., Rafael O., Ramon J. 1998. *Comparison of carcass characteristics in five strains of meat rabbit selected on different traits. Livest. Prod. Sci., 55: 53-64.*
- Grau R., Hamm R. 1953. *Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung im muskel. Naturwissenschaften, 40: 29-30.*
- Hernández P., Aliaga S., Pla M., Blasco A. 2004. *The effect of selection for growth rate and slaughter age on carcass composition and meat quality trait in rabbits. J. Anim. Sci., 82: 3138-3143.*
- Hernández P., Guerrero L., Ramírez J., Mekkawy W., Pla M., Ariño B., Ibáñez N., Blasco A. 2005. *A Bayesian approach to the effect of selection for growth rate on sensory meat quality of rabbit. Meat Sci., 69: 123-127.*
- Hernández P., Pla M., Blasco A. 1997. *Relationships of meat characteristics of two lines rabbits selected for litter size and growth rate. J. Anim. Sci., 75: 2936-2941.*
- Hernández P., Pla M., Blasco A. 1998. *Carcass characteristics and meat quality of rabbit lines selected for different objectives: II. Relationships between meat characteristics. Livest. Prod. Sci., 54: 125-131.*
- Nollet L., Toldrá F. 2009. *Handbook of muscle foods analysis. Boca Raton (USA). CRC Press.*
- Piles M., Blasco A., Pla M. 2000. *The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. Meat Sci., 54: 347-355.*
- Pla M., Guerrero L., Guardia D., Oliver M.A., Blasco A. 1998. *Carcass characteristics and meat quality of rabbit lines selected for different objectives: I Between lines comparison. Livest. Prod. Sci., 54: 115-123.*
- Pla M., Hernández P., Blasco A. 1995. *Estimation of colour parameters in rabbit carcass and meat. Meat Focus Int., 4: 181-183.*
- Pla M., Hernández P., Blasco A. 1996. *Carcass composition and meat characteristics of two rabbit breeds of different degree of maturity. Meat. Sci., 44: 85-92.*

Pla M., Pascual M., Ariño B. 2004. Protein, fat and moisture content of retail cuts of rabbits meat evaluated with the NIRS methodology. World Rabbit Sci., 12: 149-158.

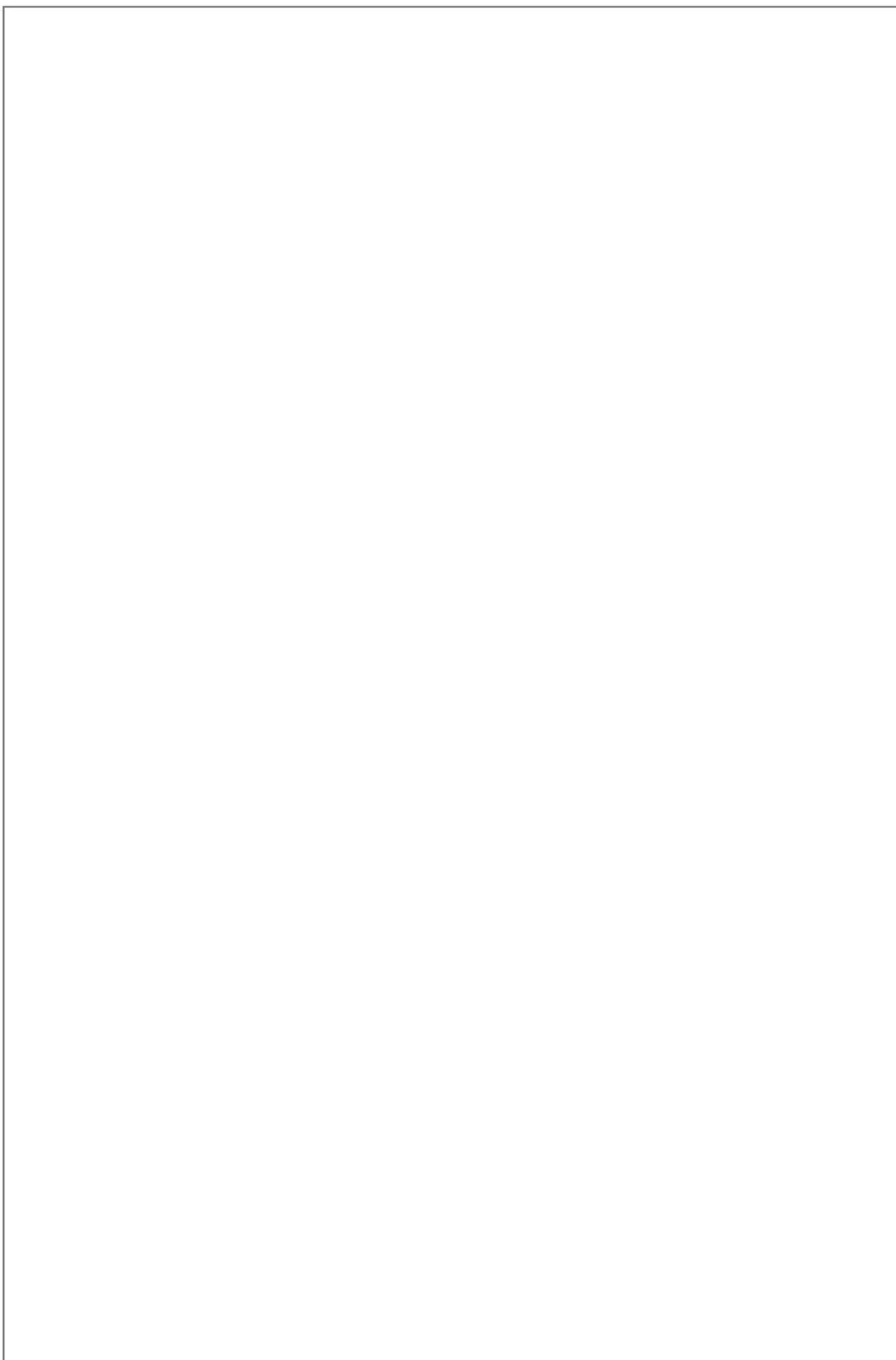
Pla M., Piles M., Valdevira J.J. 1997. Peso adulto y dimorfismo sexual de dos líneas sintéticas de conejo. Información Técnica Económica Agraria, 18: 342-344.

Resurrección A.V.A. 2003. Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. Meat Sci., 66: 11-20.



NOTAS

A large empty rectangular box intended for taking notes.



NOTAS

A large empty rectangular box intended for taking notes.



COren

El campo
es nuestro
mundo

Comprometidos con
la gente del campo

La calidad por principio

Cogal

Cunicultura Integral



Algunos de nuestros productos...



Conejo envasado en atmósfera protectora



Conejo troceado



Roti de conejo



Conejo especial paellas



Ossobuco



Medio conejo



Adobado churrasco

...



Cogal. S.Coop. Gallega
 Tel. (0034) 986 790 100
 Fax. (0034) 986 790 181
 36530 · Rodeiro · PONTEVEDRA
 www.cogal.net · cogal@cogal.net