

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA
AGRONÓMICA Y DEL MEDIO NATURAL
INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO
RURAL



**ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE EN
DOS LÍNEAS COMERCIALES DE CONEJOS**

Trabajo final de grado

Autor:

D. Víctor Múgica Sisternas

Tutora:

Dña. María Antonia Santacreu Jerez

Valencia, Julio de 2020

RESUMEN

La resiliencia es la capacidad de un animal de mantener su productividad ante los diversos desafíos ambientales. Este carácter está directamente relacionado con el bienestar animal, así como con la mayor o menor sensibilidad al estrés y a las enfermedades, por lo que juega un papel clave en las fluctuaciones de productividad del ganado. El objetivo del presente trabajo es analizar los indicadores de resiliencia a las enfermedades en dos líneas maternas de conejos antes y después de haberlas vacunado contra la enfermedad vírica hemorrágica; una de estas líneas fue fundada con criterios de longevidad (línea B) mientras que la otra es una línea con longevidad estándar (línea A). Antes de la vacunación la línea B mostró mayor recuento de glóbulos blancos (WBC) ($-4,02 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0,99$), mayor porcentaje de linfocitos ($-7,22\%$, $P=0,98$) y menor porcentaje de granulocitos ($7,41\%$, $P=0,98$) que la línea A, mientras que para los monocitos no había diferencias entre ambas líneas ($P=0,55$). Este porcentaje más alto de granulocitos de la línea A antes de la vacunación indicaría un mayor estrés crónico y mayor sensibilidad a enfermedades de la línea A respecto a la línea B. Tras la vacunación las diferencias entre las líneas fueron similares a las estimadas antes de la vacunación excepto para el porcentaje de monocitos ($-3,99\%$, $P=0,92$), apreciándose en la línea B un aumento del porcentaje de monocitos respecto a la línea A. Para el nivel de hemoglobina en sangre (Hgb) la línea B mostró mayor concentración que la línea A tanto antes ($-1,06 \text{ g/dl}$, $P=0,98$) como después de la vacunación ($-1,13 \text{ g/dl}$, $P=0,99$). Para los parámetros relacionados con las plaquetas, la línea B presentó valores menores para el recuento de plaquetas (PLT), el volumen plaquetario medio (VPM) y el plaquetocrito (Ptc) ($31,35 \text{ m/mm}^3$, $P=0,95$; $0,17 \text{ fl}$, $P=0,97$ y $0,03\%$, $P=0,96$, respectivamente) y niveles más altos para el índice de distribución plaquetario (PDW) ($-0,51 \text{ fl}$, $P=0,92$) que la línea A. Después de la vacunación la línea B siguió mostrando una menor concentración de plaquetas ($24,90 \text{ m/mm}^3$, $P=0,90$) y un plaquetocrito (Ptc) más bajo ($0,02\%$, $P=0,90$) siendo las diferencias entre líneas similares a las de antes de la vacunación. En resumen, el mayor número de glóbulos blancos, mayor porcentaje de linfocitos y menor porcentaje de granulocitos que presenta la línea B antes de la vacunación apoya la hipótesis de que es una línea más robusta. El mayor nivel de hemoglobina y el menor recuento de plaquetas también apoyan esta hipótesis. Además, después de la vacunación, en la línea B se observó un aumento del porcentaje de monocitos, lo que apoyaría lo observado en otros trabajos, una mejor respuesta del sistema inmunitario de la línea B. En su conjunto, los biomarcadores estudiados presentaron mejores resultados en la línea B, lo que podría estar relacionado con la mayor resiliencia de los animales de esta línea.

Palabras clave: resiliencia, bienestar, indicadores de resiliencia, longevidad y robustez.

ABSTRACT

Resilience is the ability of an animal to maintain its productivity in face of environmental challenges. This character is directly related to animal welfare, as well as with greater or lesser sensitivity to stress and disease, so it plays a key role in livestock productivity fluctuations. The objective of this work is to analyze the indicators of disease resilience in two maternal lines of rabbits before and after they have been vaccinated against viral haemorrhagic disease; one of these lines was founded with longevity criteria (line B) while the other is a line with standard longevity (line A). Before vaccination, line B showed a higher white blood cell count (WBC) ($-4.02 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0.99$), a higher percentage of lymphocytes (-7.22% , $P=0.98$) and a lower granulocyte percentage (7.41% , $P=0.98$) than line A, while for monocytes there were no differences between both lines ($P = 0.55$). This higher percentage of granulocytes from line A before vaccination would indicate greater chronic stress and greater sensitivity to disease from line A compared to line B. After vaccination, the differences between lines were similar to those estimated before vaccination, except for the percentage of monocytes (-3.99% , $P = 0.92$), noting in line B an increase in the percentage of monocytes with respect to line A. For blood hemoglobin level (Hgb), line B showed a higher concentration than line A both before (-1.06 g/dl, $P=0.98$) and after vaccination (-1.13 g/dl, $P=0.99$). For the parameters related to platelets, line B presented lower values for platelet count (PLT), mean platelet volume (VPM) and platelet count (Ptc) (31.35 m/mm³, $P = 0.95$; 0.17 fl, $P=0.97$ and 0.03% , $P=0.96$, respectively) and higher levels for the platelet distribution index (PDW) (-0.51 fl, $P=0.92$) than line A. After vaccination, line B continued to show a lower concentration of platelets (24.90 m/mm³, $P=0.90$) and a lower platelet count (Ptc) (0.02% , $P=0.90$), being differences between lines similar to those before vaccination. In summary, the higher number of white blood cells, higher percentage of lymphocytes and lower percentage of granulocytes presented in B line before vaccination supports the hypothesis that it is a more robust line. The higher hemoglobin level and the lower platelet count also support this hypothesis. In addition, after vaccination, in line B an increase in the percentage of monocytes was observed, which would support what was observed in other works, a better response of the immune system of line B. Taken together, the biomarkers studied presented better results in line B, which could be related to the greater resilience of the animals in this line.

Key words: resilience, well-being, indicators of resilience, longevity and robustness.

AGRADECIMIENTOS

“La mente es como un paracaídas, sólo funciona si se abre.”

Albert Einstein

Después de estos meses difíciles, hoy es el día: escribo este apartado de agradecimiento para finalizar con el trabajo de final de grado. En primer lugar, me gustaría agradecerle a mi compañera, amiga y mi amor, Paula, por creer en mí aún cuando ni yo mismo lo hacía, por hacerme ver que esto era posible y por estar ahí siempre en los momentos difíciles; agradecerles a mis padres Mayte y Víctor y a mi hermana Ángela por el apoyo incondicional y el amor que me habéis dado, gracias por enseñarme a no rendirme nunca y por haber estado siempre ahí, animándome a conseguir mis metas. También me gustaría agradecer a mis suegros sus sabios consejos y su comprensión. Finalmente me gustaría darle las gracias a mi tutora Toñi por su valiosa ayuda.

Gracias a todos de corazón.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR CUNÍCOLA	1
1.1.1. <i>Situación en España</i>	1
1.1.2. <i>Situación en el mundo</i>	2
1.2. ORGANIZACIÓN DE LA MEJORA GENÉTICA Y CARACTERES DE SELECCIÓN	4
1.2.1. <i>Núcleos de selección y líneas</i>	4
1.2.2. <i>Objetivos de selección</i>	5
1.3. LA RESILIENCIA EN LA PRODUCCIÓN ANIMAL.....	6
1.3.1. <i>Concepto de resiliencia</i>	6
1.3.2. <i>Importancia económica de la resiliencia</i>	6
1.3.3. <i>Indicadores de resiliencia</i>	7
2. OBJETIVOS.....	13
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
3.1. MATERIAL ANIMAL E INSTALACIONES	14
3.1.1. <i>Línea A</i>	14
3.1.2. <i>Línea B</i>	15
3.2. PROTOCOLO EXPERIMENTAL	15
3.3. CARACTERES ESTUDIADOS	16
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVOS	20
4.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	23
4.2.1. <i>Estudio de los parámetros relacionados con los leucocitos</i>	23
4.2.2. <i>Estudio de los parámetros relacionados con los glóbulos rojos y las plaquetas</i>	25
5. CONCLUSIONES	28
6. BIBLIOGRAFÍA.....	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Censo de conejos por CCAA según datos REGA a 01/01/2019.	2
Tabla 3. 1. Número de hembras utilizadas por línea y lote.....	16
Tabla 3. 2. Número de datos analizados por línea, lote y carácter.	18
Tabla 3. 3. Número de datos analizados por línea en el momento de la vacunación (0 horas) y 72 horas después de la vacunación contra la enfermedad vírica-hemorrágica.....	18
Tabla 4. 1. Parámetros de dispersión y de centralización por línea a 0 horas para el recuento de glóbulos blancos (WBC), porcentaje de linfocitos, monocitos y granulocitos.....	21
Tabla 4. 2. Parámetros de dispersión y de centralización por línea a 0 horas para los parámetros relacionados con la hemoglobina y las plaquetas.	22
Tabla 4. 3. Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas A y B para el recuento de glóbulos blancos (WBC), porcentaje de linfocitos, monocitos y granulocitos.....	25
Tabla 4. 4. Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas A y B para la concentración de hemoglobina y de los parámetros relacionados las plaquetas.....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. 1. Evolución de la producción de carne de conejo en España entre 2008 Y 2018. Mapama 2018.....	1
Figura 1. 2. Producción de carne de conejo en % por CCAA en 2018. (https://www.mapa.gob.es/).....	2
Figura 1. 3. Principales productores de conejo a nivel mundial en el 2018. FAOSTAT 2018.	3
Figura 1. 4. Producción carne de conejo en la UE en 2018. FAOSTAT 2018.	3
Figura 1. 5. Organización piramidal en la producción cunícola (https://www.3tres3.com/).	4
Figura 1. 6. Esquema de producción cunícola a tres vías (Fernández et al.2014).	5
Figura 1. 7. Esquema de la respuesta inflamatoria.	8
Figura 1. 8. Esquema de formación de las células sanguíneas.....	10
Figura 3. 1. Conejo de origen neozelandés blanco (New Zealand White).....	15
Figura 3. 2. ADVIA 120 Hematology System.	17
Figura 4. 1. Caja con bigotes para el carácter WBC (recuento de glóbulos blancos) en sangre a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).....	21
Figura 4. 2. Caja con bigotes para el carácter Hgb (hemoglobina) en sangre a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).	22

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Situación actual del sector cunícola

1.1.1. Situación en España

En España la producción de carne de conejo está extendida prácticamente por todo el territorio nacional, aunque en unas regiones más que en otras. En los últimos años, debido al grado de profesionalización que existe en el sector cárnico en general y en el cunícola en particular, se ha producido un importante descenso de las producciones más localistas, reduciéndose el número de explotaciones ganaderas en su conjunto. Esta tendencia a la profesionalización ha derivado en una mayor concentración de la producción (tanto granjas como mataderos) dando lugar a un menor número de operadores pero de mayor dimensión. Este proceso ha provocado desde el año 2015 una reducción notable en la producción, manteniéndose esta tendencia descendente hasta la actualidad. España tuvo en 2018 una producción total de 53022 toneladas de carne de conejo (Mapama, 2018), suponiendo un 7,3% menos que el año anterior con un total de 57258 toneladas. En la figura 1.1 se muestra la evolución de la producción de carne de conejo en España entre 2008 y 2018.

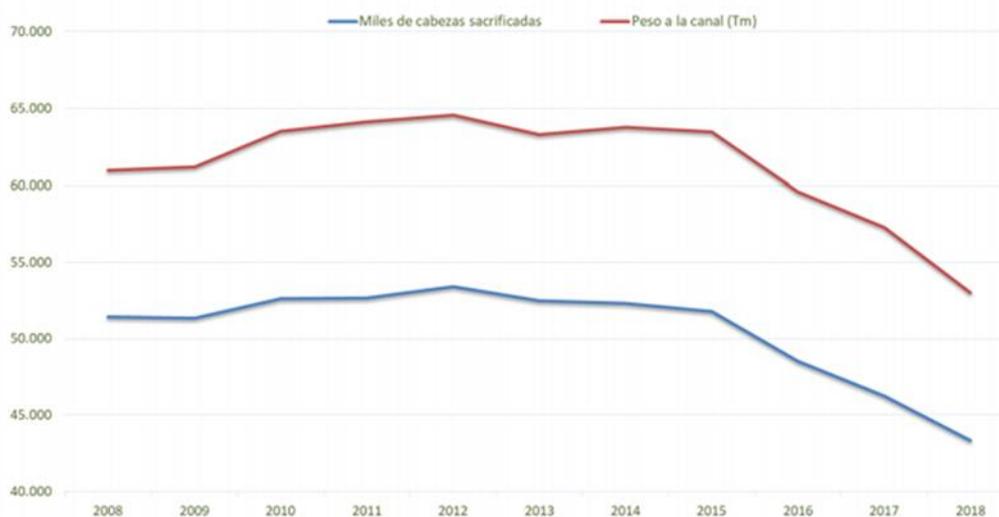


Figura 1. 1. Evolución de la producción de carne de conejo en España entre 2008 Y 2018. Mapama 2018.

En 2018, las principales CCAA productoras de carne de conejo, con más del 80% del censo, fueron Castilla y León, Cataluña, Galicia, Aragón y la Comunidad Valenciana (Mapama 2018, Figura 1.2), mientras que la capacidad de matanza reside fundamentalmente en Cataluña con el 25% de los sacrificios, seguida de Galicia y Castilla y León con el 21% cada una.

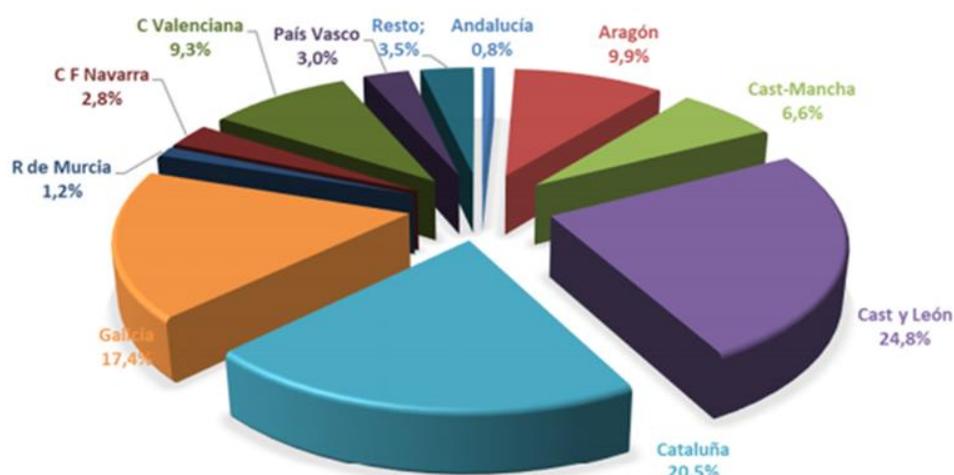


Figura 1. 2. Producción de carne de conejo en % por CCAA en 2018. (<https://www.mapa.gob.es/>).

El censo de animales también ha disminuido en esta década (un 5,5% según el Mapama 2018). Al inicio del 2019, el censo rondaba los 5,7 millones de cabezas (Tabla 1.1). Castilla y León y Cataluña son la cara y cruz del censo de conejos, pues mientras en la primera la producción no ha dejado de crecer en estos años, en la segunda se ha producido un descenso superior al 4,4% en el número de animales.

Tabla 1.1. Censo de conejos por CCAA según datos REGA a 01/01/2019.

CCAA	Nº animales	%
Andalucía	45.880	0,8
Aragón	569.144	9,9
Cast-Mancha	381.099	6,6
Cast y León	1.420.848	24,8
Cataluña	1.177.797	20,5
Galicia	999.971	17,4
R de Murcia	67.856	1,2
C F Navarra	162.373	2,8
C Valenciana	534.590	9,3
País Vasco	171.011	3,0
Resto	201.357	3,5
ESPAÑA	5.731.926	100,0

1.1.2. Situación en el mundo

La carne de conejo representa el quinto tipo de carne más consumido a nivel mundial, tras el porcino, aves, vacuno y ovino-caprino, guardando un importante componente cultural. A nivel mundial el mayor productor de carne de conejo es China con 865477 toneladas (Figura 1.3) y un total de 540 millones de cabezas sacrificadas. El segundo productor a nivel mundial es la UE con 237774 toneladas. Tras ellos se ubica Corea del Norte con 144244 toneladas y un total de 120 millones de cabezas sacrificadas.

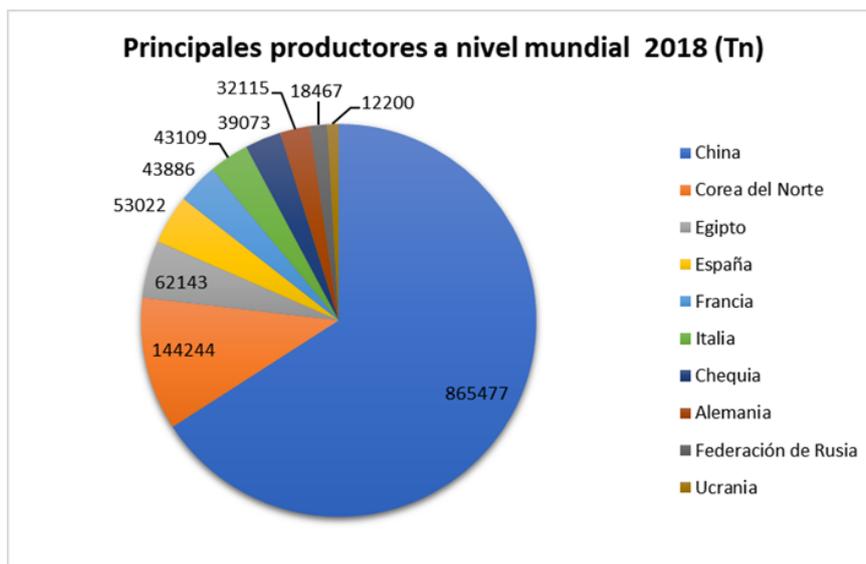


Figura 1. 3. Principales productores de conejo a nivel mundial en el 2018. FAOSTAT 2018.

En Europa, tanto la producción como el consumo se concentran principalmente en nueve países de la UE, siendo los cuatro primeros productores España, Francia, Italia y Portugal, abarcando cerca del 90% de la producción comunitaria. No obstante, además de los países del sur de la UE ya mencionados, también hay producción relativamente importante de carne de conejo en Bélgica, Holanda, Polonia, República Checa, Eslovaquia, Grecia y Alemania (Figura 1.4).

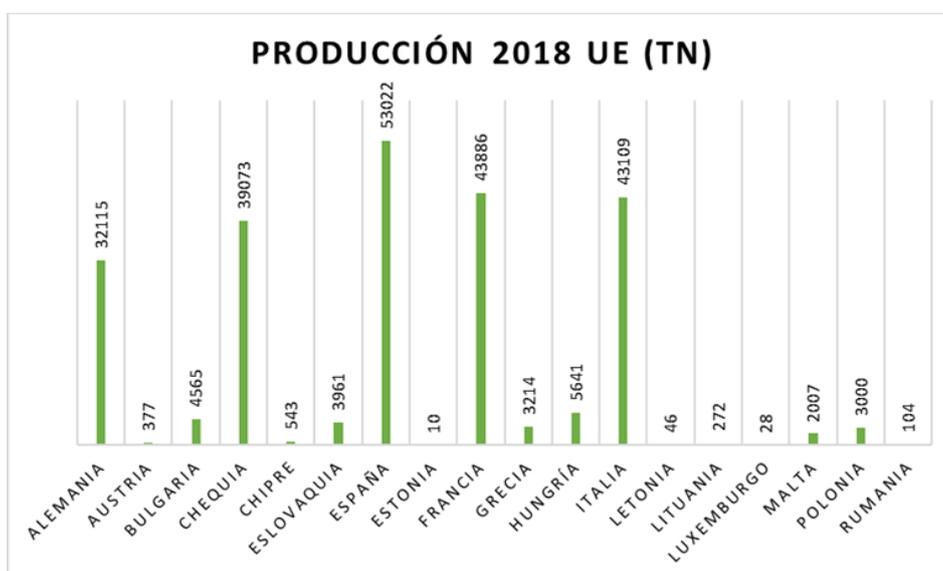


Figura 1. 4. Producción carne de conejo en la UE en 2018. FAOSTAT 2018.

1.2. Organización de la mejora genética y caracteres de selección

Los programas de mejora genética son una de las vías para mejorar los beneficios de los ganaderos y ayudar a evitar el abandono de esta actividad y a la profesionalización de los ganaderos.

1.2.1. Núcleos de selección y líneas

En el conejo, del mismo modo que ocurre con otras especies prolíficas de interés comercial, la organización de la mejora genética es de tipo piramidal (Figura 1.5). El objetivo es la obtención del producto comercial (el gazapo de engorde), para ello es habitual realizar un cruce a tres vías en el que intervienen tres líneas especializadas (Figura 1.6). Este tipo de cruce se caracteriza por la realización de un primer cruzamiento entre dos líneas maternas (AXB), obteniéndose de esta forma hembras híbridas o cruzadas (H) y un segundo cruzamiento de las hembras híbridas con machos de una línea paterna (C) para obtener el producto comercial.

Las líneas utilizadas en los cruzamientos se seleccionan en función de su valor genético utilizando métodos de selección intralínea y no se tiene en cuenta el comportamiento productivo que tienen los animales en el cruzamiento.

Los animales se seleccionan en las granjas conocidas como núcleos de selección. Estos núcleos de selección son generalmente de tamaño reducido, tienen entre 20-25 machos y unas 80-120 hembras por línea, y rara vez exceden de 50 machos y 250-300 hembras (Baselga, 1995). En el siguiente escalón de la pirámide están las granjas multiplicadoras, donde se obtienen las hembras cruzadas (también conocidas como híbridas) a partir del cruzamiento de abuelas y abuelos de las líneas maternas. Por último, en las granjas de producción, las hembras híbridas serán montadas o inseminadas con machos finalizadores para la obtención de gazapos de engorde. Los machos son vendidos por los núcleos de selección a las granjas comerciales.

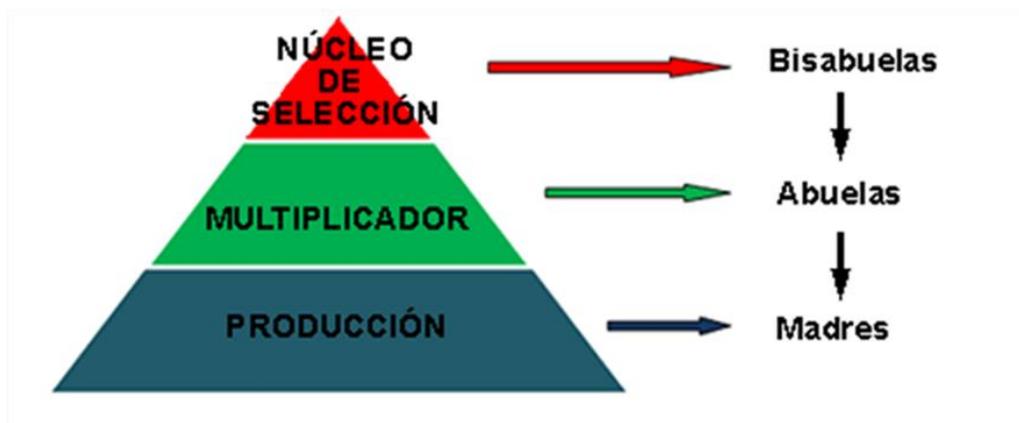


Figura 1. 5. Organización piramidal en la producción cunícola (<https://www.3tres3.com/>).

En nuestro país se denominan núcleos de selección secundarios a las granjas multiplicadoras. Los núcleos secundarios son abastecidos por los núcleos de selección primarios, tanto de hembras como de machos de una de las líneas maternas para formar una réplica de dicha

línea, creando un semi-núcleo de selección propio. En España, los núcleos de selección de la Universitat Politècnica de València (UPV) y del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) funcionan como núcleos primarios (Fernández, 2016).

Los propietarios de los núcleos secundarios, con la supervisión de los técnicos que se encuentran en los núcleos primarios, se encargan de continuar la selección en sus propias granjas. Con esto se consigue difundir la mejora que se obtiene en los núcleos de selección primarios a través de la reproducción de animales en las granjas de multiplicación y en las granjas de producción (Torres et al., 1997).

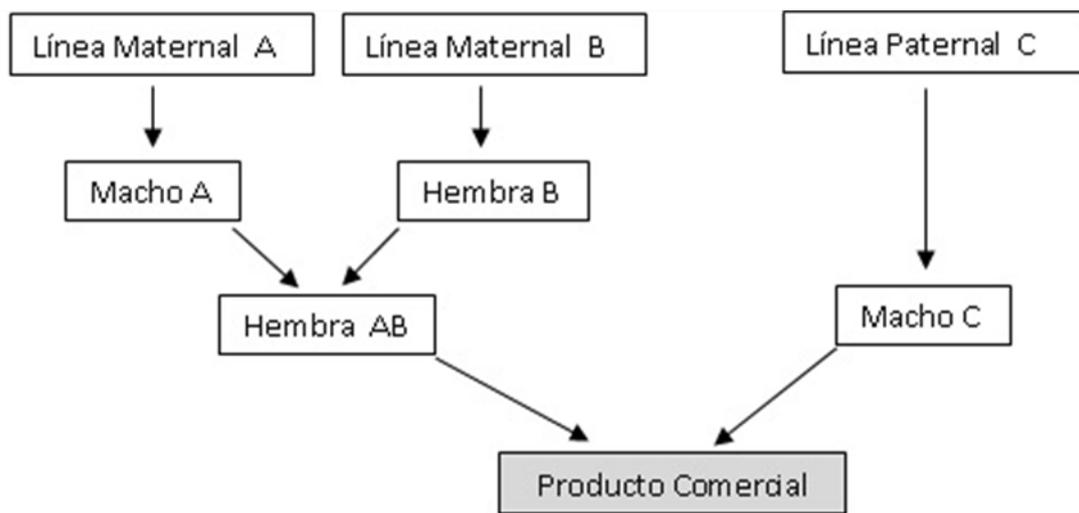


Figura 1. 6. Esquema de producción cunícola a tres vías (Fernández et al.2014).

1.2.2. Objetivos de selección

Las granjas cunícolas obtienen sus ingresos a partir de la venta de conejos de engorde a mataderos, por lo que el objetivo primordial de estas granjas será la de producir el máximo número de gazapos a menor coste. El criterio de selección más utilizado en líneas maternas es el tamaño de camada al nacimiento o al destete (Baselga y Blasco, 1989), mientras que en las líneas paternas se utiliza como criterio de selección la velocidad de crecimiento, estrechamente relacionada con el índice de conversión.

En la mayoría de las especies agropecuarias en general y para el sector cunícola en particular, la selección de los caracteres productivos ha venido siendo el objetivo más importante durante las últimas décadas. Esta selección basada únicamente en la cantidad de producto por animal ha conducido a un deterioro de la salud, así como a un mayor estrés metabólico y una menor longevidad, aumentando los problemas relativos al bienestar animal (Rauw et al., 1998). Por ello, en los últimos años, la resiliencia se ha propuesto como un carácter candidato a la selección por su interés económico en producción animal, orientándose las investigaciones en cómo medirse y estudiar su determinación genética (Berghof et al., 2019).

1.3. La resiliencia en la producción animal

1.3.1. Concepto de resiliencia

En el marco de la producción animal, Albers et al. (1987) definen la resiliencia como la capacidad de un huésped para mantener un nivel razonable de productividad cuando se expone a un patógeno infeccioso. El interés por la resiliencia ha aumentado en los últimos años en producción animal y varios autores han propuesto otras definiciones. Hermesch (2014) describe la resiliencia como la habilidad de un animal para mantener su productividad ante los cambios ambientales. Colditz y Hine (2016) describen la resiliencia como la capacidad de los animales de hacer frente a corto plazo a las perturbaciones en su entorno y volver rápidamente al estado previo al desafío. Por último, Berghof et al. (2019) definen la resiliencia como la capacidad del animal para ser afectado mínimamente por disturbios/desafíos o para regresar rápidamente al estado previo a la exposición al disturbio/desafío.

1.3.2. Importancia económica de la resiliencia

Desde el inicio de los programas de selección, la mayoría de los programas de mejora genética se han centrado exclusivamente en la mejora de los caracteres productivos. Este aumento de la producción se ha relacionado con una disminución de la capacidad de los animales para responder a desafíos que han repercutido en su longevidad (Pascual, 2010). Además, otros autores han relacionado esta mayor sensibilidad de los animales a los desafíos, con una mayor variabilidad de la producción a lo largo de la vida productiva del animal, con las implicaciones económicas que conlleva (Berghof et al., 2019). Así, Argente et al. 2018 muestran que las conejas reproductoras que presentan una alta variabilidad en el tamaño de camada (tamaños de camada muy diferente entre los distintos partos) también muestran una mayor sensibilidad a las enfermedades y al estrés. Además, el valor económico de la resiliencia también se basa en el beneficio económico que supone una reducción de la mortalidad y de la aparición de enfermedades en el producto comercial y los reproductores y la consiguiente reducción de los costes sanitarios y los costes de mano de obra asociados a la revisión y cuidado de los animales. Elgersma et al. (2018) estudiaron como la salud y la longevidad de las vacas lecheras parecen estar relacionadas con la mayor o menor variabilidad en la producción diaria de leche durante todo el periodo de ordeño y concluyeron que aquellas vacas con una menor variación en el rendimiento lechero tuvieron significativamente menos enfermedades relacionadas con la producción (salud de la ubre, cetosis, etc.) que aquellas hembras que presentaban una alta variabilidad en la producción diaria. Putz et al. (2018) obtuvieron resultados similares en el caso de cerdos criados en extensivo y concluyeron que la variación en la ingesta diaria de alimento y la variación en la duración diaria en el comedero se correlacionaban positivamente con la mortalidad y con el número de tratamientos sanitarios realizados; estos resultados apoyan que tanto el consumo de alimento como el tiempo invertido en alimentarse son indicativos del estado de salud de los animales y por tanto indicadores de resiliencia.

Con la mejora de la resiliencia, las granjas podrían disponer de animales con una producción menos variable a lo largo del periodo productivo, durante periodos de tiempo más largos (animales más longevos) y en muchos casos con menor coste sanitario al tratarse de animales más robustos.

En este contexto, en la Unidad de Mejora del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la Universitat Politècnica de València se ha fundado una línea seleccionando hembras con una gran longevidad aplicando una alta intensidad de selección (Sánchez, 2006). Algunos trabajos apoyan que esta línea, conocida como línea B o línea LP (longevo-productiva), es más robusta y resiliente que otras líneas maternas fundadas con criterios productivos y que presenta una elevada prolificidad (Sánchez et al., 2008). Esta línea es una de las líneas utilizadas en este trabajo junto con otra línea de longevidad estándar (Línea A).

1.3.3. Indicadores de resiliencia

Hay una serie de procesos biológicos que subyacen a la resiliencia y que se relacionan con las respuestas adaptativas que ocurren para minimizar el impacto de los factores estresantes o desafíos. Por ello, se ha propuesto la medida de algunos de los parámetros biológicos asociados al estrés o a la respuesta inmune como una forma indirecta de estimar la resiliencia. Entre los parámetros biológicos más utilizados en humanos y en animales como indicadores de resiliencia caben destacar el recuento del total de glóbulos blancos y sus diferentes tipos (Bush, 2019), la concentración de proteínas de fase aguda y proteínas complemento por su relación con la respuesta inflamatoria (Guibarra y Lluilli, 2011) y algunos biomarcadores del metabolismo del hígado relacionados con la respuesta inmune (Cachofeiro, 2009). Según Goldsby et al, (2003), el inicio de esta respuesta inflamatoria se caracteriza por la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- α) que inducen una respuesta a nivel del hipotálamo, el hígado y la médula ósea. La respuesta en el hipotálamo se caracteriza por la síntesis de hormonas como la prostaglandina (para provocar la fiebre) y la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que induce la producción de cortisol en la corteza suprarrenal. Asimismo, la respuesta provocada en la médula ósea induce la producción de leucocitos que serán requeridos en el tejido inflamado. Los procesos desencadenados en el hígado se promueven tanto por las citocinas liberadas como por los corticoesteroides (como el cortisol) generados por la vía hipotalámica ante la respuesta a la inflamación (Goldsby et al., 2003). En el hígado se promueve la síntesis de proteínas de fase aguda como la PCR y la SAA, entre otras. Estas proteínas permitirán la activación del sistema del complemento que facilitará el reconocimiento de los patógenos por las células fagocíticas, para proceder a su eliminación (Goldsby et al., 2003, figura 1.7).

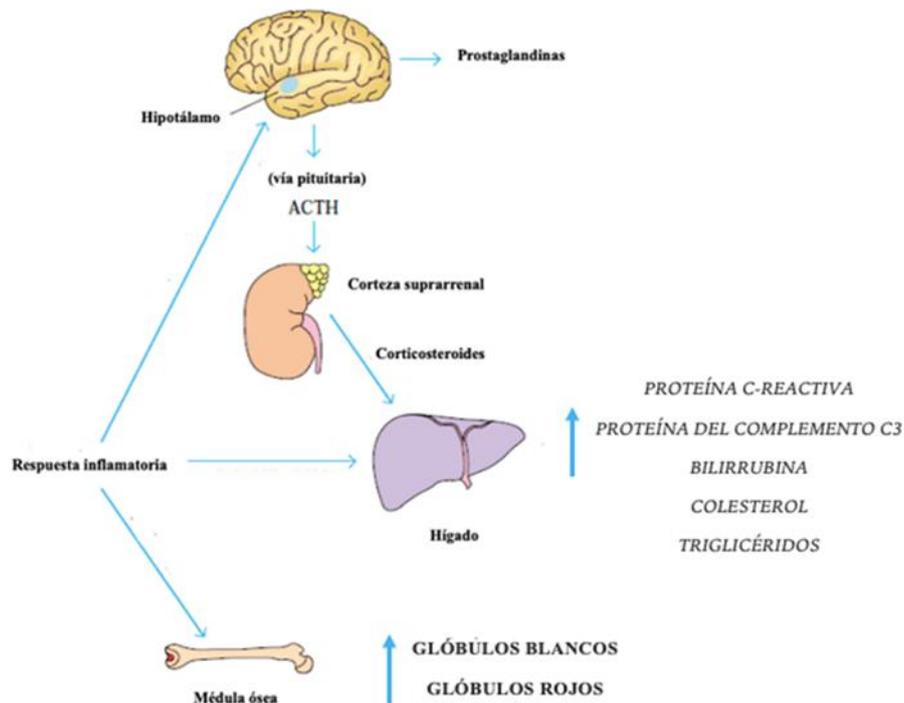


Figura 1. 7. Esquema de la respuesta inflamatoria.

En resumen, las proteínas de fase aguda y proteínas complemento se sabe que forman parte de la respuesta inmunológica innata y aumentan su concentración en respuesta a procesos infecciosos o inflamatorios (Guibarra y Lluilli, 2011). Por último, algunos lípidos como el colesterol y triglicéridos (precursores de hormonas corticoides), o la bilirrubina (hormona sintetizada por el hígado) también se ha visto que ejercen un papel importante como biomarcadores para detectar si un animal ha estado expuesto a elevados niveles de estrés (Cachofeiro, 2009). El papel de los glóbulos blancos y otros parámetros hematológicos es también fundamental en la respuesta inflamatoria y como son los indicadores de resiliencia que son el objeto de estudio en este trabajo fin de grado, se van a tratar con más detalle en el siguiente subapartado.

GLÓBULOS BLANCOS Y OTROS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS

Una de las maneras que tiene el cuerpo de responder ante la presencia de infecciones y otro tipo de factores estresores es aumentando los niveles en sangre de distintos tipos de glóbulos blancos. Este aumento de glóbulos blancos forma parte de la primera línea de defensa en la respuesta inmunitaria innata o respuesta celular inespecífica. Dicho incremento puede producirse en unas pocas horas, aumentando primero el número de neutrófilos y, si la infección persiste, aumentará el nivel de monocitos en sangre. Los glóbulos blancos son por tanto uno de los biomarcadores de mayor importancia de la sensibilidad y/o resistencia a las enfermedades, aumentando su concentración rápidamente en respuesta a inflamaciones o infecciones (Bush, 2019).

Cuando se produce una infección, el sistema inmunitario también responde produciendo distintas sustancias y agentes diseñados para atacar microorganismos invasores concretos (respuesta inmune específica):

- Linfocitos (B y T) permiten al organismo recordar los antígenos y diferenciar lo propio de lo extraño y peligroso, incluidos virus y bacterias. Los linfocitos circulan por el torrente sanguíneo y por el sistema linfático y entran en los tejidos cuando es necesario.
- Los anticuerpos actúan dirigiéndose contra microorganismos invasores específicos, destruyéndolos directamente o ayudando a los neutrófilos a seleccionar el objetivo y destruirlo.

La eficacia con la que el sistema inmunitario defiende el organismo contra los microorganismos depende parcialmente de la información genética de cada individuo.

A parte de los biomarcadores mencionados anteriormente que actúan en respuesta a enfermedades o inflamaciones, existen otros biomarcadores que son síntomas de la presencia directa de enfermedades. La liberación de citocinas en respuesta a un proceso inflamatorio provoca la liberación de una proteína conocida como hepcidina, estando esta proteína implicada en el bloqueo del hierro, como consecuencia de este bloqueo se produce una ferropenia funcional con secuestro del hierro en sus lugares de almacenamiento, dando lugar a su vez a la aparición de anemia inflamatoria también conocida como anemia de inflamación o infección; por lo que la concentración de hemoglobina en sangre disminuye en respuestas inflamatorias e infecciosas (Cervera, 2012).

Por último, las plaquetas (trombocitos) también tendrían una función como biomarcador. Las plaquetas tienen un papel fundamental en respuesta a infecciones o inflamaciones. En el proceso de respuesta, en las plaquetas se sintetizan diferentes proteínas que intervienen tanto en la unión de las plaquetas a la pared vascular dañada como en la interacción con nuevas plaquetas y otras células sanguíneas para formar un trombo final, por lo que la concentración de plaquetas en sangre incrementará en respuesta a un proceso inflamatorio e infeccioso (Macaya y López, 2013).

GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS

Los glóbulos blancos, también llamados leucocitos, son un tipo de células sanguíneas que se producen en la médula ósea y se encuentran en la sangre y en tejidos linfáticos. Los glóbulos blancos son parte del sistema inmunitario del cuerpo y ayudan a combatir infecciones y otras enfermedades. En conejos se alcanzan unos valores normales de leucocitos en sangre de $5,2-12,5 \times 10^3$ unidades por μl . Habitualmente, la determinación de glóbulos blancos en la sangre es parte de la prueba de recuento sanguíneo completo (RSC), la cual se puede usar para determinar la presencia de afecciones como infecciones, inflamaciones, alergias y leucemias, siendo por tanto un indicador de resiliencia.

En el hemograma, los resultados que habitualmente se ofrecen son el número total de glóbulos blancos y la cantidad de cada uno de los tipos de leucocitos (en número total y en porcentaje). Los tipos de glóbulos blancos son los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los agranulocitos (linfocitos y monocitos) (figura 1.8).

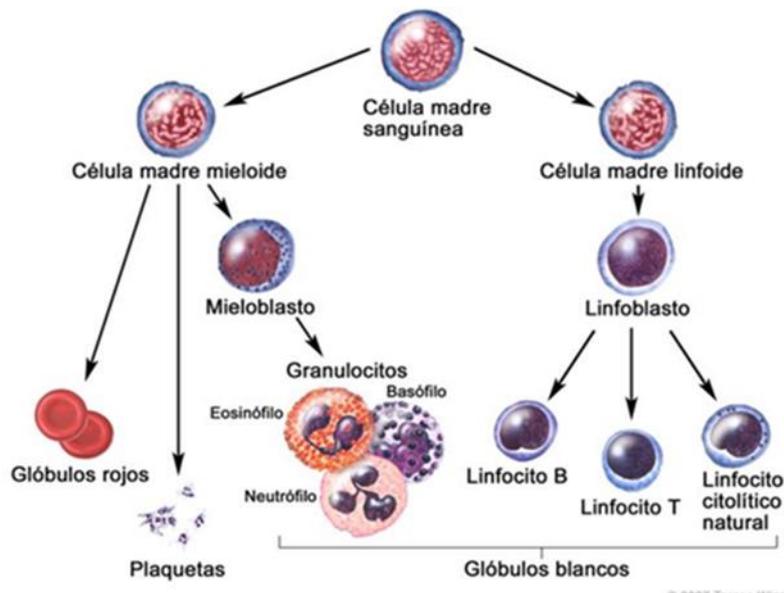


Figura 1. 8. Esquema de formación de las células sanguíneas.

- **Granulocitos**

Se encuentran en proporciones que oscilan el 70-75% del total de glóbulos blancos, siendo estos el tipo de glóbulo blanco más abundante. La razón del nombre de granulocitos es porque estas células presentan diminutos gránulos en el interior del citoplasma, diferenciándose con facilidad bajo el efecto de coloración mediante tinciones. Estos granulocitos se pueden subdividir en:

- **Neutrófilos**

Los neutrófilos son el tipo de granulocitos más abundantes constituyendo cerca del 60-70% del total de glóbulos blancos. Estos forman parte esencial del sistema inmune innato siendo los primeros en acudir cuando existe una infección. Permanecen en sangre unos pocos días, ya que su función consiste en localizar y neutralizar las bacterias o células dañadas de los tejidos, de tal forma que cuando las encuentran en un tejido las digieren y se rompen, liberando sustancias que hacen que aumente la circulación de sangre en la zona atrayendo a más neutrófilos.

- **Basófilos**

El porcentaje en sangre representa menos del 2% del total de glóbulos blancos. Su función principal es la de intervenir en reacciones alérgicas, liberando histamina y heparina, favoreciendo la circulación de más glóbulos blancos hacia las zonas dañadas.

- **Eosinófilos**

Los eosinófilos representan del 2-10% del total de glóbulos blancos y son los encargados de responder ante reacciones alérgicas inactivando sustancias extrañas. También poseen gránulos tóxicos que matan a las células invasoras y limpian el área de inflamación.

- **Agranulocitos**

Si los granulocitos de caracterizaban principalmente por poseer un citoplasma totalmente lleno de gránulos, los agranulocitos carecen completamente de ellos en el citoplasma y además no presentan la cobertura de membrana plasmática también propia de los granulocitos. Los agranulocitos pueden clasificarse en: linfocitos y monocitos.

- **Linfocitos**

Constituyen cerca del 30% del total de glóbulos blancos, siendo más usuales en el sistema linfático que en el torrente sanguíneo. Se forman en la médula ósea y luego se dirigen hacia el bazo, ganglios linfáticos, amígdalas, timo y cualquier parte del cuerpo. Son células muy especializadas en el sistema inmunitario. Al contrario que los granulocitos, viven mucho tiempo, dividiéndose y multiplicándose ante estímulos determinados.

- **Monocitos**

Constituyen entre el 5-12% del total de glóbulos blancos. Estos ejercen una doble función; por un lado, la función defensiva, atacando a microorganismos patógenos o destruyendo y digiriendo células dañadas o infectadas y por otro lado, también asumen el papel de macrófagos de tejidos, engullendo y procesando todos aquellos desechos de células moribundas. También pueden convertirse en células especializadas como los osteoclastos, que remodelan el tejido óseo envejecido.

GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS

Son los responsables de dar el color rojo a la sangre por su alto contenido en hemoglobina, una proteína que contiene hierro en su estructura. Su principal misión es la de transportar el oxígeno y el CO₂. Usualmente, en los hemogramas también se miden otros parámetros como el hematocrito, el número de glóbulos rojos, etc. pero estos valores tienen más variabilidad.

Una presencia de valores normales de hemoglobina según las características del animal (edad, sexo, etc.) puede indicar el bienestar de este, aunque los valores de los otros parámetros estén alterados. En resumen, aquellos animales más resilientes se verán menos influenciados por la anemia inflamatoria producida por un proceso inflamatorio/infeccioso, por lo que sus niveles de hemoglobina en sangre serán mayores que la de aquellos animales menos robustos (Cervera, 2012).

PLAQUETAS O TROMBOCITOS

Las plaquetas son células producidas por los megacariocitos en la médula ósea, encontrándose en concentraciones de alrededor de 250000 unidades por mm³, estas circulan por la sangre y juegan un papel de gran importancia en la coagulación de esta. Para ello forman nudos en la red de fibrina, liberando sustancias para acelerar la coagulación y aumentar la retracción del coágulo sanguíneo. En las heridas las plaquetas aceleran la coagulación y además al aglutinarse obstruyen pequeños vasos y generan sustancias que los contraen (Avellana, 2001). Tanto las plaquetas como los factores de coagulación ayudan a regular la temperatura corporal y a mantener una concentración de agua y electrolitos constantes en las células (Bradford, 2010). Cabe destacar por tanto que aquellos animales menos resilientes, en respuesta a procesos

inflamatorios sufrirán más roturas en las placas de ateroma, es decir más lesiones focalizadas en las arterias; esto provocará mayor migración de plaquetas a estas zonas dañadas (Macaya y López, 2013), por lo que se espera que estos animales tengan concentraciones plaquetarias superiores que aquellos animales más resilientes en respuesta a procesos inflamatorios o infecciosos.

2. OBJETIVOS

En la Unidad de Mejora Genética del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia se dispone de dos líneas maternas de conejos, las líneas A y B. La línea A, es una línea creada a partir de animales procedentes de una de las razas más utilizadas en cunicultura sin considerar ningún criterio relacionado con la longevidad de los animales. La línea B es una línea creada siguiendo criterios de elevada longevidad y un tamaño de camada alrededor de la media.

OBJETIVO GENERAL

- ✓ Estudiar si las líneas A y B presentan diferencias en resiliencia medida a partir de los cambios en los valores hemáticos después de vacunar a los animales para la enfermedad vírica hemorrágica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estudiar los valores hemáticos en las dos líneas antes de vacunar a los animales contra la enfermedad vírica hemorrágica.
- ✓ Estudiar los cambios en los valores hemáticos 72 horas después de la vacunación para evaluar la respuesta inmunitaria de ambas líneas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material animal e instalaciones

Los animales del presente trabajo pertenecen a dos líneas maternas, las líneas A y B, que se seleccionan en la granja de conejos del grupo de mejora genética del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal de la Universitat Politècnica de València (UPV). Estas líneas se describen con más detalle en los siguientes subapartados.

En el presente trabajo se han utilizado un total de 48 hembras que tenían entre 18 y 20 semanas de vida (Tabla 3.1), 23 hembras pertenecían a la línea A y 25 a la línea B. Las conejas se alojaron desde la 4ª semana hasta el momento de la toma de datos en jaulas de reposición individuales o colectiva de acero galvanizado. La temperatura y ventilación en la granja se controlaba mediante el uso de extractores tipo hélice dispuestos en paralelo; de este modo se garantizaba que la nave dispusiera de las condiciones adecuadas de temperatura y humedad. Durante el periodo de engorde, las conejas eran alimentadas ad libitum en comederos tipo tolva; se les aportaba una dieta comercial con una composición de 15,0% de proteína bruta, 16,8% de fibra bruta, 2,4% de grasa bruta y 7,3% de cenizas de NANTA, S.A. ® (Valencia, España). A partir de los 63 días de vida a las conejas se les alimentaba de forma racionada con el siguiente pienso comercial: 16,5% de proteína bruta, 15,0% de fibra bruta; 3,0% de grasa bruta y 7,8% de cenizas (NANTA, S.A. ®).

Todos los procedimientos experimentales con animales fueron aprobados por el comité ético de investigación de la Universidad Politécnica de Valencia atendiendo a la legislación sobre experimentación animal del real decreto 53/2013 (BOE, 2018).

3.1.1. Línea A

Los trabajos de fundación de la línea A se iniciaron en 1976 muestreando conejos de la raza neozelandesa (NZW), criados por cunicultores en las proximidades de Valencia (España) (Otero, 2018). La fundación de esta línea supuso una serie de problemas iniciales, tanto a nivel productivo como sanitario, los animales se muestrearon de poblaciones de la raza (NZW) en granjas comerciales sin tener en cuenta su nivel productivo y al juntarse animales de diferentes granjas se presentaron una serie de problemas sanitario de gran importancia, ya que cada granja posee un microbismo particular y característico de la misma. En 1980, después de tres generaciones sin selección, la línea se empezó a seleccionar por un índice familiar para aumentar el tamaño de camada al destete (Baselga et al., 1984; Estany et al., 1989). Actualmente, se ha alcanzado la generación 50 manteniéndose la línea cerrada desde su fundación.



Figura 3. 1. Conejo de origen neozelandés blanco (*New Zealand White*).

3.1.2. Línea B

También conocida como línea longevo-productiva (LP) o robusta; se trata de una línea sintética obtenida a partir de sucesivos cruzamientos mediante el uso de razas no registradas. Para su fundación se muestrearon animales de un gran número de granjas comerciales en España y Portugal y se aplicó una gran intensidad de selección para el carácter longevidad, las hembras debían tener al menos 25 partos y una media de nacidos vivos de 7,5 (Sánchez, 2005 y Sánchez et al., 2008). En la actualidad, la línea B se encuentra en la generación 15 de selección y se mantiene cerrada desde su fundación.

La mayor longevidad reproductiva de las conejas pertenecientes a la línea B (Sánchez, 2006), las convierte en hembras más robustas y resilientes, capaces de resistir los diversos desafíos ambientales y productivos, dada a su mayor capacidad de superar situaciones exigentes (Theilgaard et al., 2007, 2009) que otras líneas fundadas con otros criterios y que presentan una longevidad estándar como por ejemplo la línea A descrita en el apartado previo.

3.2. Protocolo experimental

La toma de muestras de sangre en los animales se realizó los lunes y los martes a primera hora de la mañana en el laboratorio de la granja cunícola de la Unidad de Mejora Genética Animal de la Universitat Politècnica de València (UPV); las conejas pertenecientes a ambas líneas se encontraban distribuidas en la misma nave, bajo las mismas condiciones ambientales y de manejo.

El procedimiento habitual consistió en anotar primero el peso de las conejas de las cuales se iba a extraer muestras de sangre. Una vez eran trasladadas al laboratorio se procedía a la extracción de sangre a partir de la arteria central auricular de la oreja (vena marginal de la oreja). La sangre se recogía en dos tubos que contenían ácido etilendiaminotetraacético tripotásico (K3-EDTA) con un volumen de sangre de 3 mililitros en cada uno de los tubos. De uno de los tubos K3-EDTA se cogió una alícuota y se hicieron los análisis hematológicos

Inmediatamente después de extraer la sangre a las conejas (momento que designamos como 0 horas), se les vacunaba con 0,5 centímetros cúbicos por vía intramuscular contra la enfermedad vírica-hemorrágica (CUNIPRAVAC® RHD).

A los tres días (72 horas) después de la inyección se volvió a recoger otra muestra de sangre siguiendo el mismo procedimiento descrito a 0 horas y se realizó otro hemograma con la finalidad de estudiar los cambios en los niveles de los diversos parámetros sanguíneos.

De cada coneja se anotaba el lote, el día de la extracción, la línea, el tatuaje de la hembra, el peso y la hora a la cual eran tomadas las muestras. En dos conejas del total de 48 hubo dificultades a la hora de llevar a cabo la segunda extracción de sangre y solo se tiene muestra a 0 horas. La toma de muestras de los animales se organizó en tres lotes, un lote por semana durante tres semanas consecutivas. El número de hembras por línea y lote se presenta en la tabla 3.1.

Tabla 3. 1. Número de hembras utilizadas por línea y lote.

Lote	Línea A	Línea B
1	11	11
2	6	7
3	6	7
Total	23	25
Total	48	

3.3. Caracteres estudiados

Se han estudiado los siguientes caracteres:

Caracteres relacionados con los leucocitos:

- Conteo total de glóbulos blancos (WBC del inglés “White Blood Count”). Se expresa en ($\times 10^3/\mu\text{l}$).
- Linfocitos. Expresado como porcentaje respecto al total de glóbulos blancos.
- Monocitos o macrófagos. Expresado como porcentaje respecto al total de glóbulos blancos.
- Granulocitos. Expresado como porcentaje respecto al total de glóbulos blancos.

Caracteres relacionados con los eritrocitos:

- Hemoglobina (Hgb) en sangre expresado en g/dl.

Caracteres relacionados con las plaquetas:

- Recuento de plaquetas en sangre en m/mm^3 (**PLT** del inglés "Platelet Count").
- **Volumen plaquetario medio (VPM)** expresado en femtolitro (fl). Mide el tamaño medio de las plaquetas, siendo este un buen indicador para el diagnóstico diferencial de enfermedades medulares.
- **El plaquetocrito (Ptc)** representa el porcentaje del volumen de plaquetas sobre el volumen de plasma. Desde el punto de vista clínico tiene poca utilidad diagnóstica.
- **Índice de Distribución Plaquetario o distribución del tamaño de las plaquetas (PDW)** expresado en femtolitro (fl). Es un indicador de la dispersión de las plaquetas, esto es que, a mayor heterogeneidad en el tamaño de las plaquetas, mayor es el ancho de distribución. El PDW aumenta en las trombopenias en recuperación, en las trombosis y en algunas hemopatías.

Los **valores de PDW** (como el **VPM en sangre**) no tienen ningún significado por sí solos cuando sus valores cambian levemente con respecto a la normalidad. Es fundamental que exista un contexto clínico para poder darles categoría de patología. Estos valores pueden verse alterados por procesos en los que existe inflamación tanto crónica como agudas, así como en ciertos procesos infecciosos o enfermedades mieloproliferativas, por lo que son altamente inespecíficos.

Los valores de todos estos caracteres se midieron antes y después de la vacunación contra la enfermedad vírica-hemorrágica. Todos estos parámetros se midieron en el analizador de hematología ADVIA 120 (Siemens Healthcare Diagnostics, Erlangen, Alemania) (figura 3.2).



Figura 3. 2. ADVIA 120 Hematology System.

El número total de datos analizados para cada carácter por línea y lote se muestra en la tabla 3.2. y por línea y hora en la tabla 3.3. Se han analizado un total de 837 datos pertenecientes a las 48 conejas, 23 de la línea A y 25 de la línea B. Como se ha comentado previamente, en 3 conejas de la línea B hubo dificultades a la hora de llevar a cabo las extracciones de sangre en los dos momentos (0 y 72 horas), razón por la que el número de datos analizados es de 47.

Tabla 3. 2. Número de datos analizados por línea, lote y carácter.

Línea	Lote	WBC	Lin	Mon	Gran	Hgb	PLT	VPM	Ptc	PDW
A	1	22	22	22	22	22	22	22	22	22
	2	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	3	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Total		46	46	46	46	46	46	46	46	46
B	1	19	19	19	19	19	19	19	19	19
	2	14	14	14	14	14	14	14	14	14
	3	14	14	14	14	14	14	14	14	14
Total		47	47	47	47	47	47	47	47	47
Total		837								

WBC: Recuento de glóbulos blancos; Lin: Linfocitos; Mon: Monocitos; Gran: Granulocitos; Hgb: Hemoglobina; PLT: Recuento de plaquetas; VPM: Volumen plaquetario medio; Ptc: Plaquetocrito; PDW: Índice de distribución plaquetario.

Tabla 3. 3. Número de datos analizados por línea en el momento de la vacunación (0 horas) y 72 horas después de la vacunación contra la enfermedad vírica-hemorrágica.

Línea	Hora	WBC	Lin	Mon	Gran	Hgb	PLT	VPM	Ptc	PDW	Total
A	0	23	23	23	23	23	23	23	23	23	207
B	0	24	24	24	24	24	24	24	24	24	216
A	72	23	23	23	23	23	23	23	23	23	207
B	72	23	23	23	23	23	23	23	23	23	207
Total		837									

WBC: Recuento de glóbulos blancos; Lin: Linfocitos; Mon: Monocitos; Gran: Granulocitos; Hgb: Hemoglobina; PLT: Recuento de plaquetas; VPM: Volumen plaquetario medio; Ptc: Plaquetocrito; PDW: Índice de distribución plaquetario.

3.4. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizaron dos programas: RStudio y Rabbit.

Con el programa RStudio se realizaron los análisis descriptivos para todos los caracteres estudiados y se calcularon los parámetros de dispersión: la varianza, desviación típica y el coeficiente de variación, así como los parámetros de centralización: la media, la moda y la mediana. También se realizaron y analizaron los gráficos de “Caja de bigotes” y los “Histogramas” para detectar posibles datos anómalos. Se eliminaron 5 datos anómalos, 3 de la línea A para WBC y PDW en los 2 momentos 0h y 72h y 2 datos de la línea B para WBC en los dos momentos.

Con el programa RStudio también se realizó un análisis de regresión simple para estudiar si había una relación lineal entre el peso de las conejas y los valores obtenidos para cada uno de los caracteres. Se observó que existía relación lineal positiva entre el peso y los tipos de glóbulos blancos por lo que decidió incluirse la covariable peso en el modelo.

Con el programa Rabbit se realizaron los análisis estadísticos Bayesianos. El modelo utilizado fue el siguiente:

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

Los componentes de la ecuación son los siguientes:

μ es la media.

p_i es el efecto permanente madre.

LH_j es el efecto de la interacción línea-hora (4 niveles: línea A antes de la vacunación, línea B antes de la vacunación, línea A a las 72 horas después de la vacunación y línea B a las 72 horas después de la vacunación).

L_k es el efecto lote (con 3 niveles: lote 1, lote 2 y lote 3).

b es el coeficiente de regresión.

X_{ik} es la covariable peso de la hembra a las 0 horas.

e_{ijk} es el error residual.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como ya se ha comentado en apartados previos, las dos líneas maternas objeto del presente estudio (línea A y línea B) se fundaron en el núcleo de selección de la Universitat Politècnica de València con diferentes criterios de selección. La línea A se fundó a partir de animales de la raza Neozelandesa sin tener en cuenta ningún criterio productivo o de longevidad, mientras que la línea B se fundó a partir de hembras procedentes de granjas comerciales caracterizadas por su elevada longevidad (más de 25 partos) y una prolificidad media. Los principales criterios de eliminación de hembras reproductoras en las granjas comerciales son los problemas patológicos, los problemas reproductivos o la escasa productividad de las conejas. Las hembras que alcanzan un número tan elevado de partos son por tanto hembras que se adaptan bien a los diferentes desafíos ambientales sin que se presenten variaciones en su productividad, por lo que se espera que las hembras de la línea B sean más robustas que las conejas de la línea A. Se consideran animales más robustos aquellos que presentan menor sensibilidad a enfermedades y factores estresantes en general y además, mantienen unos niveles elevados de productividad a pesar de sufrir alteraciones y retos ambientales.

4.1. Análisis descriptivos

En primer lugar, se realizaron cajas con bigotes para cada uno de los parámetros en función de la línea (A y B) y del momento (0 horas y 72 horas después de la vacunación contra la enfermedad vírica hemorrágica) para detectar datos anómalos. Se eliminaron un total de 5 datos de la base de datos: 4 datos de conejas para parámetros relacionados con el recuento de leucocitos (WBC) y 1 relacionado con el PDW (índice de distribución plaquetario); de esos 5 datos eliminados 3 eran de conejas pertenecientes a la línea A mientras que 2 eran datos de conejas de la línea B. Una vez eliminados los datos anómalos se repitieron los análisis descriptivos y las cajas con bigotes (figuras 4.1 y 4.2) para comprobar si los datos se distribuían de forma normal.

Los parámetros de centralización (media, mediana, máximos y mínimos) y de dispersión (desviación típica y coeficiente de variación) para cada uno de los parámetros estudiados antes de la vacunación (0 horas) aparecen en las tablas 4.1 y 4.2. Los parámetros para los caracteres relacionados con los glóbulos blancos, hemoglobina y plaquetas están de acuerdo con los obtenidos por Gunia et al, (2019) y los valores de referencia de conejo disponibles en www.medirabbit.com.

Tabla 4. 1. Parámetros de dispersión y de centralización por línea a 0 horas para el recuento de glóbulos blancos (WBC), porcentaje de linfocitos, monocitos y granulocitos.

Parámetro	Línea	m	med	max	min	S	CV
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	LA	11.22	11.18	19.68	5.23	3.44	30.66%
	LB	13.37	11.53	38.18	7.74	6.24	46.67%
Linfocitos (%)	LA	35.40	31.10	54.00	18.70	11.30	31.92%
	LB	43.38	43.70	59.50	30.30	8.58	19.78%
Monocitos (%)	LA	16.18	16.40	20.90	9.70	3.16	19.53%
	LB	18.12	17.85	26.60	9.20	4.52	24.94%
Granulocitos (%)	LA	48.42	49.00	71.30	26.00	12.19	25.18%
	LB	38.51	37.85	54.90	22.30	7.66	19.89%

WBC= recuento de glóbulos blancos; LA= línea amarilla; LB= línea blanca; m= media; med= mediana; max= máximo; min= mínimo; S= desviación típica; CV= coeficiente de variación.

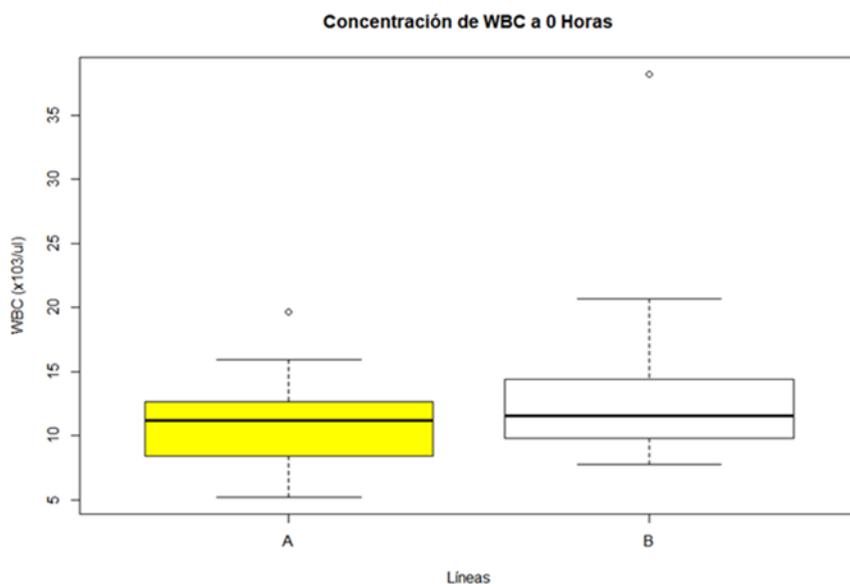


Figura 4. 1. Caja con bigotes para el carácter WBC (recuento de glóbulos blancos) en sangre a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).

Tabla 4. 2. Parámetros de dispersión y de centralización por línea a 0 horas para los parámetros relacionados con la hemoglobina y las plaquetas.

Parámetro	Línea	m	med	max	min	S	CV
Hemoglobina (g/dl)	LA	12.09	12.45	13.60	8.30	1.21	10.00%
	LB	12.90	12.80	16.30	10.10	1.44	11.16%
PLT (m/mm3)	LA	201.60	200.00	361.00	91.00	55.72	27.64%
	LB	164.80	163.00	255.00	85.00	47.44	28.79%
VPM (fl)	LA	7.60	7.60	7.90	7.20	0.21	2.76%
	LB	7.42	7.30	7.90	7.00	0.25	3.37%
Ptc (%)	LA	0.15	0.15	0.29	0.07	0.04	26.60%
	LB	0.12	0.12	0.19	0.06	0.04	33.30%
PDW (fl)	LA	7.95	8.10	9.60	6.50	0.91	11.45%
	LB	8.54	8.40	11.00	7.30	0.91	10.66%

PLT= recuento de plaquetas; VPM= volumen plaquetario medio; Ptc= plaquetocrito; PDW= índice de distribución plaquetario; LA= línea amarilla; LB= línea blanca; m= media; med= mediana; max= máximo; min= mínimo; S= desviación típica; CV= coeficiente de variación.

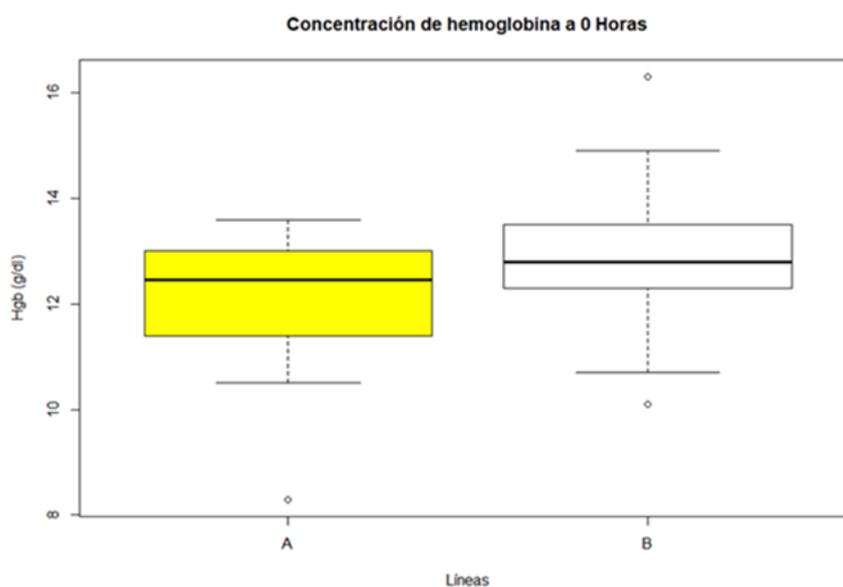


Figura 4. 2. Caja con bigotes para el carácter Hgb (hemoglobina) en sangre a 0 horas (antes de la vacunación para la enfermedad vírica hemorrágica) de las dos líneas (A y B).

4.2. Análisis estadísticos

En las tablas 4.3. y 4.4. aparecen las diferencias entre las conejas de las líneas A y B (D_{A-B}) para los caracteres estudiados antes (0h) y 72 horas después de haberlas vacunado contra la enfermedad vírica hemorrágica (72h). La vacunación puede ayudar en el estudio de la dinámica de la respuesta inflamatoria de las conejas al inocular una dosis controlada del antígeno (Posthouwer et al. 2004). En este estudio se utilizó un tipo de vacuna inactiva contra la enfermedad vírica hemorrágica que incluye adyuvantes para aumentar la producción de anticuerpos. Los adyuvantes incluidos en el diseño de las vacunas no-vivas tienen una función primordial, que es modular la activación del sistema inmune innato e iniciar la respuesta inmunitaria.

4.2.1. Estudio de los parámetros relacionados con los leucocitos

Para el recuento de glóbulos blancos en sangre (WBC), la línea B, que es la línea más robusta, presentó un mayor valor antes de la vacunación ($P=0,99$). Este resultado está de acuerdo con los resultados de García-Quirós et al. (2014) que muestran que animales de 6 semanas de la línea B presentan un mayor conteo de glóbulos blancos que otras dos líneas estudiadas, una línea materna (línea H) y una línea paterna (línea R) y señalan que esto le confiere un estatus de inmunidad al destete que le da una mejor capacidad para enfrentarse a los problemas digestivos y otros retos durante el engorde. Setenta y dos horas después de la vacunación, las diferencias son menos evidentes ($P=0,80$) y se debe a que en la línea A ha aumentado el número de glóbulos blancos ($+1,51 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0,82$) y en la B ha disminuido ($-1,15 \times 10^3/\mu\text{l}$, $P=0,77$). Gunia et al. (2019), también observan como el número de glóbulos blancos aumenta en el grupo de conejos más sensibles respecto al grupo de conejos más resistentes y a la población control después de 14 días de ser inoculados con *Pasteurella multocida*.

Antes de la vacunación, la línea B mostró mayor porcentaje de linfocitos en sangre ($-7,22\%$, $P=0,98$) y menor porcentaje de granulocitos ($7,41\%$, $P=0,98$) que la línea A, mientras que para los monocitos no hay diferencias entre ambas líneas ($P=0,55$). Los resultados obtenidos para el porcentaje de linfocitos son consistentes con lo previamente encontrado por Ferrián et al. (2012), el número total de linfocitos, que son los que están relacionados con la respuesta adaptativa del sistema inmune, era mayor en la línea B que otra línea materna, la línea V. Además, los resultados de estos autores apoyan que un largo proceso de selección puede afectar al sistema inmune dado que los animales de la generación 36 de la línea V presentaban un menor conteo de linfocitos que los de la generación 16 de esa misma línea en el mismo ambiente (la generación 16 había sido reconstituida a partir de embriones vitrificados). Los animales de la línea de este trabajo son animales que pertenecen a la generación 50 de selección mientras que la línea B es una línea de más reciente creación y los animales pertenecen a la generación 15. El mayor porcentaje de linfocitos de la línea B respecto a la línea A se podría explicar tanto por los criterios de fundación de las líneas como por el menor número de generaciones de selección que presenta esta línea. Por otra parte, las conejas pertenecientes a la línea A mostraron mayores niveles de granulocitos antes de la vacunación, los granulocitos están involucrados en la respuesta inmune innata o inmediata. Este porcentaje más alto de granulocitos de la línea A antes de la vacunación indicaría un mayor estrés crónico y mayor sensibilidad a enfermedades

y al estrés de la línea A respecto a la línea B de acuerdo con lo observado por otros autores (Argente et al., 2019 y Gunia et al., 2019).

Tras la vacunación las diferencias entre las líneas son similares a las estimadas antes de la vacunación excepto para el porcentaje de monocitos. La respuesta en el porcentaje de monocitos viene acompañada de cambios en el porcentaje de linfocitos. Antes de la vacunación no se observaban diferencias entre las líneas para el porcentaje de monocitos (-0.12, $P=0.55$) pero después de la vacunación aumentan las diferencias entre las líneas (-3,99%, $P=0,92$) y la línea B, que es la línea más longeva, presenta un aumento del porcentaje de monocitos respecto a la línea A lo que sugiere una mejor respuesta inmunitaria a las 72 horas. Los monocitos están involucrados en procesos fagocitarios y forman parte de la respuesta inmune innata e inespecífica. Este aumento en el porcentaje de monocitos en la línea B viene acompañada de una pequeña bajada del porcentaje de linfocitos, aunque la línea B sigue mostrando mayores porcentajes de linfocitos que la línea A. Argente et al. (2019) también obtuvieron mayor concentración de linfocitos en conejas de la línea más resistente tras vacunarlas contra la enfermedad vírica hemorrágica. Otros estudios como los de Ferrian et al. (2012) y Ferrian et al. (2013) concluyeron que las conejas de la línea B mostraban recuentos de linfocitos más elevados y mejor respuesta en condiciones de estrés por calor que otras líneas de conejos. El conjunto de resultados para los glóbulos blancos de este trabajo y trabajos previos sobre esta línea permite apoyar la hipótesis de que las conejas pertenecientes a la línea B son más resilientes que las de la línea A.

Tabla 4. 3. Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas A y B para el recuento de glóbulos blancos (WBC), porcentaje de linfocitos, monocitos y granulocitos.

	n_A	A	n_B	B	D_{A-B}	HPD _{95%}	P
WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)							
Antes vacuna (0H)	21	10.39	24	14.41	-4.02	[-7.16, -0.77]	0.99
Después vacuna (72H)	22	11.90	22	13.26	-1.36	[-4.65, 1.73]	0.80
Linfocitos (%)							
Antes vacuna (0H)	21	36.82	24	44.04	-7.22	[-14.20, -0.29]	0.98
Después vacuna (72H)	22	38.20	22	42.19	-3.99	[-11.47, 2.62]	0.92
Monocitos (%)							
Antes vacuna (0H)	21	16.77	24	16.89	-0.12	[-2.39, 2.07]	0.55
Después vacuna (72H)	22	15.95	22	19.10	-3.15	[-5.45, -1.01]	1.00
Granulocitos (%)							
Antes vacuna (0H)	21	46.46	24	39.05	7.41	[0.69, 14.76]	0.98
Después vacuna (72H)	22	45.79	22	38.70	7.09	[0.09, 14.49]	0.97

A= mediana de la línea A; B= mediana de la línea B; D_{A-B} = Diferencias ente las líneas A y B; HPD_{95%}= intervalo de confianza; P= probabilidad de que la diferencia sea >0 cuando $D_{A-B}>0$ o que sea <0 cuando $D_{A-B}<0$; n_A = N° de datos de la línea A; n_B = N° de datos de la línea B.

4.2.2. Estudio de los parámetros relacionados con los glóbulos rojos y las plaquetas

En la tabla 4.4. se muestran los niveles en sangre del resto de parámetros estudiados antes (0 horas) y 72 horas después de la vacunación contra la enfermedad vírica hemorrágica. Para el nivel de hemoglobina en sangre (Hgb), la línea B mostró a priori mayor nivel de hemoglobina que la línea A tanto antes (-1,06 g/dl, P=0,98) como después de la vacunación (-1,13 g/dl, P=0,99).

Para la mayoría de los parámetros relacionados con las plaquetas, la línea B presenta valores menores antes de la vacunación y por tanto la diferencia entre las líneas es positiva para la concentración de plaquetas (PLT), el volumen plaquetario medio (VPM) y el plaquetocrito (Ptc) (31.35m/mm³, P=0,95; 0,17fl, P=0,97 y 0,03%, P=0,96, respectivamente). En el caso del índice de distribución plaquetario (PDW), la línea B presenta valores mayores (-0,51, P=0,92). En

general se asocia una menor concentración de plaquetas con una menor sensibilidad a enfermedades y a agentes estresores. Los valores más bajos de plaquetas en la línea B estaría de acuerdo con los resultados encontrados por Gunia et al. (2019). Estos autores encontraron niveles más bajos de plaquetas en animales resistentes que en animales sensibles tras la vacunación con *Pasteurella multocida*.

Setenta y dos horas después de la vacunación, la línea B siguió mostrando una menor concentración de plaquetas ($24,90\text{m/mm}^3$, $P=0,90$) y un plaquetocrito (Ptc) más bajo ($0,02\%$, $P=0,90$) y las diferencias entre líneas eran similares a antes de la vacunación. En el caso del volumen plaquetario medio y el índice de distribución plaquetario, las diferencias se hacen más pequeñas y no encontrándose evidencias suficientes de que sean mayores que cero ($P=0,77$ y $P=0,68$, respectivamente). No se han encontrado trabajos en los que se hable de la relación de VPM y PDW con la resiliencia posiblemente porque que son más inespecífico como indicadores de enfermedades tal y como indican Failace y Fernandes (2017).

Tabla 4. 4. Parámetros de la distribución marginal posterior de las diferencias entre las líneas A y B para la concentración de hemoglobina y de los parámetros relacionados las plaquetas.

	n_A	A	n_B	B	D_{A-B}	HPD_{95%}	P
Hemoglobina (g/dl)							
Antes vacuna (0H)	22	12.14	25	13.20	-1.06	[-2.04, -0.11]	0.98
Después vacuna (72H)	23	10.69	23	11.82	-1.13	[-2.10, -0.12]	0.99
PLT (m/mm³)							
Antes vacuna (0H)	22	198.81	25	167.46	31.35	[-6.20, 69.67]	0.95
Después vacuna (72H)	23	214.95	23	190.05	24.90	[-12.21, 65.28]	0.90
VPM (fl)							
Antes vacuna (0H)	22	7.58	25	7.42	0.17	[-0.01, 0.34]	0.97
Después vacuna (72H)	23	7.58	23	7.51	0.07	[-0.11, 0.25]	0.77
Ptc (%)							
Antes vacuna (0H)	22	0.15	25	0.12	0.03	[-0.01, 0.06]	0.96
Después vacuna (72H)	23	0.16	23	0.02	0.02	[-0.01, 0.05]	0.90
PDW							
Antes vacuna (0H)	21	7.93	25	8.44	-0.51	[-1.22, 0.20]	0.92
Después vacuna (72H)	23	7.58	23	7.75	-0.17	[-0.85, 0.53]	0.68

A= mediana de la línea A; B= mediana de la línea B; D_{A-B}= Diferencias ente las líneas A y B; HPD_{95%}= intervalo de confianza; P= probabilidad de que la diferencia sea >0 cuando D_{A-B}>0 o que sea <0 cuando D_{A-B}<0; n_A= N^o de datos de la línea A; n_B= N^o de datos de la línea B.

En resumen, el mayor número de glóbulos blancos, mayor porcentaje de linfocitos y menor porcentaje de granulocitos que presenta la línea B antes de la vacunación apoya la hipótesis de partida de que es una línea más robusta. El mayor nivel de hemoglobina y el menor recuento de plaquetas también apoyan esta hipótesis. Además, después de la vacunación, la línea B sigue presentando un mayor porcentaje de linfocitos que la línea A y aumenta el porcentaje de monocitos, lo que sugiere una mejor respuesta del sistema inmunitario de la línea B.

Con el mismo grupo de animales se han estudiado otros biomarcadores de la respuesta inmune y se ha visto que la línea A presentaba niveles más altos de la proteína C-reactiva antes de la vacunación, lo que indicaría un mayor estrés crónico y una mayor sensibilidad a enfermedades y al estrés de la línea A respecto a la línea B. Además, después de la vacunación, fue la línea B la que presentó un aumento mayor de la proteína C-reactiva que la A. En el estudio realizado por McDade et al., (2005) se demuestra que una baja concentración basal de la proteína C-reactiva inicial, junto a una gran respuesta por parte del individuo después de la estimulación por la vacunación, está relacionado con un buen funcionamiento del proceso inflamatorio. Por ello, con nuestros resultados y los resultados del estudio paralelo con este mismo grupo de animales, se puede concluir que la línea B parece presentar un mejor sistema inmune y una mejor respuesta a factores estresantes como es la vacunación contra una enfermedad.

5. CONCLUSIONES

La línea B es más robusta y resiliente, antes de la vacunación esta línea presenta un mayor recuento de glóbulos blancos, mayor porcentaje de linfocitos y mayor concentración de hemoglobina que la línea A, lo que está relacionado con un mejor sistema inmune y una menor sensibilidad a enfermedades.

Antes de la vacuna, la línea A presenta un porcentaje más alto de granulocitos y de plaquetas lo que apoya la evidencia de un mayor estrés crónico y mayor sensibilidad a enfermedades de la línea A respecto a la línea B.

Después de la vacunación, no hay una respuesta inmunitaria muy diferente en las dos líneas para la mayor parte de parámetros sanguíneos estudiados. Las diferencias entre las líneas A y B son similares a las estimadas antes de la vacunación, con la excepción del mayor aumento del porcentaje de monocitos en la línea B, lo que apoyaría una mejor respuesta del sistema inmunitario innato de la línea B.

En general, los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de la mayor resiliencia de las conejas de la línea B frente a las de la línea A.

6. BIBLIOGRAFÍA

ALBERS, GAA.; GRAY, GD.; PIPER, LR.; BARKER, JSF.; LEJAMBRE, LF.; BARGER, IA. (1987). The genetics of resistance and resilience to *haemonchus-contortus* infection in young Merino sheep. *International Journal for Parasitology*, vol. 17, p. 1355-1363.

ANDRÉS, M.A.; APARICIO, M.; PIÑEIRO, C. (2008). Granjas de genética: particularidades de manejo y gestión de datos <https://www.3tres3.com/articulos/granjas-de-genetica-particularidades-de-manejo-y-gestion-de-datos_2451/> [Consulta: 16 de abril de 2020]

ARGENTE, MJ.; GARCÍA, ML.; ZBYŇOVSKÁ, K.; PETRUSKA, P.; CAPCARAVÁ, M.; BLASCO, A. (2019). Correlated response to selection for litter size environmental variability in rabbits's resilience. *Animal.*, 2348-2355.

AVELLANA, M. (2001). Hemograma (Biometría Hemática) – Plaquetas. London: Laboratorios, 135-998-834.

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

BASELGA, M.; BLASCO, A. (1989). Mejora genética del conejo de producción de carne. Mundi-Prensa, Madrid, 110.

BASELGA, M.; BLASCO, A.; ESTANY, J. (1984). 3'd World Rabbit Congress, vol. 1, p. 62-65. Roma: Italia.

BERGHOF, T.; BOVENHUIS, H.; MULDER, H. (2019). Body Weight Deviations as Indicator for Resilience in Layer Chickens. Wageningen University & Research Animal Breeding and Genomics, Wageningen, Netherlands.

BERGHOF, T.; POPPE, M.; MULDER, H. (2019). Opportunities to Improve Resilience in Animal Breeding Programs. vol. 9, p. 1-7.

BLASCO, A.; MARTÍNEZ-ALVARO, M.; GARCÍA, M.L.; CAPCAROVA, M.; ZBYNOVSKA, K.; PETRUSKA, P.; IBÁÑEZ-ESCRICHE, N.; ARGENTE, M.J. (2018). "selection for genetic environmental sensitivity of litter size changes resilience in rabbits" en *World congress on genetics applied to livestock production digital archive*. vol. 89, p. 2.

BRADFORD, S. (2010). *MEDICINA INTERNA DE GRANDES ANIMALES*. Barcelona: Elsevier.

BUSH, L. (2019). "Defensa contra la infección". Florida: Florida Atlantic University. <<https://www.merckmanuals.com/es-pr/hogar/infecciones/biolog%C3%ADa-de-las-enfermedades-infecciosas/defensas-contra-la-infecci%C3%B3n>> [Consulta: 1 de Mayo del 2020]

CACHOFEIRO, V. (2009). Alteraciones del colesterol y enfermedad cardiovascular, en: libro de la salud cardiovascular del hospital clínico San Carlos y la fundación BBVA, ed. Nerea S.A. Madrid, p. 131-140.

CERVERA, Á. (2012). "Anemia de la inflamación/infección" en *Anales de Pediatría Continuada*, vol. 10, Núm. 5, p. 273-281.

COLDITZ, I.; HINE, B. (2016). Resilience in farm animals: biology, management, breeding and implications for animal welfare. *Animal Production Science*. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15297>

ELGERSMA, G. G.; DE JONG, G.; VAN DER LINDE, R.; MULDER, H. A. (2018). Fluctuations in milk yield are heritable and can be used as a resilience indicator to breed healthy cows. *J. Dairy. Sci.* 101, 1240–1250. doi: 10.3168/jds.2017-13270.

España. Ley Orgánica 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluidos la docencia. BOE, 20 de noviembre de 2018, núm. 34, p. 17-20.

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*, vol. 21, p. 67-76.

FAILACE, R.; FERNANDES, F. (2017). *HEMOGRAMA. MANUAL DE INTERPRETACIÓN*. Porto Alegre. Editorial Médica Panamericana S.A.

FAOSTAT. <<http://www.fao.org/faostat/es/#data/QL/visualize>> [Consulta: 24 de abril de 2020]

FERNÁNDEZ, E. N. (2016). “Estimación de efectos genéticos aditivos y no aditivos en líneas maternales de conejos”. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, España.

FERNÁNDEZ, E.; MARTÍNEZ, R.; GÉNERO, E. (2014). “Caracteres reproductivos en la mejora de conejos para carne” en *Revista Veterinaria argentina*, vol. 31, nº 315, p. 1-2.

FERRIAN, S.; BLAS, E.; LARSEN, T.; SÁNCHEZ, J.P.; FRIGGENS, N.C.; CORPA, J.M.; BASELGA, M.; PASCUAL, J.J. (2013). Comparison of immune response to lipopolysaccharide of rabbit does selected for litter size at weaning or founded for reproductive longevity. *Res. Vet. Sci.*, 94: 518-525. doi:10.1016/j.rvsc.2013.01.00

FERRIAN, S.; GUERRERO, I.; BLAS, E.; GARCÍA-DIEGO, F.J.; DAVID VIANA, D.; PASCUAL, J.J.; CORPA, J.M. (2012). How selection for reproduction or foundation for longevity could have affected blood lymphocyte populations of rabbit does under conventional and heat stress conditions. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 150, 53–60.

GARCÍA-QUIRÓS, A.; ARNAU-BONACHERA, A.; PENADÉS, M.; CERVERA, C.; MARTÍNEZ-PAREDES, E.; RÓDENAS, L.; SELVA, L.; VIANA, D.; CORPA, J.M.; PASCUAL, J.J. (2014). "A robust rabbit line increases leucocyte counts at weaning and reduces mortality by digestive disorder during fattening" en *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 161, issues 3-4, pag. 123-131.

GOLDSBY, R.A.; KINDT, T.J.; OSBORNE, B.A.; KUBY, J. (2003). *Immunology*, 5th ed. W.H Freeman and Company.

GUIBARRA, V. H.; LLIULLI, Y. (2011). Proteínas de fase aguda. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, vol. 13, número 1, p. 667-670.

GUNIA, M.; LANTIER, F.; BALMISSE, E.; GUITTON, E.; HELLOIN, E.; LE CREN, D.; LENOIR, G.; MAUPIN, M.; ROBERT, R.; RIOU, M.; GARREAU, H. (2019). Projet RELAPA (génomique pour la

Resistance génétique des Lapins à la Pasteurellose) : statut hématologique de lapins résistants et sensible. *18èmes Journées de la Recherche Cunicole, 27-28 mai 2019, Nantes, France, 73-76.*

HERMESCH, S. (2014). Breeding Focus 2014 – Improving Resilience. (ed. S. Hermesch and S. Dominik), pp. 5-17. Animal Genetics and Breeding Unit, University of New England, Australia.

MACAYA, C; LÓPEZ, A. (2013). “Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición” en *Revista Española de Cardiología*, vol.13, Núm. B, p. 2-7.

MCDADE, TW.; BORJA, J.B.; KUZAWA, C.W.; PEREZ, T.L.; ADAIR, L.S. (2005). “C-reactive protein response to influenza vaccination as model of mild inflammatory stimulation in the Philippines” en *Vaccine* 33, 2004–2008.

MEDIRABBIT. *Complete blood count and biochemistry reference values in rabbits.* <http://www.medirabbit.com/EN/Hematology/blood_chemistry.htm> [Consulta: 3 de julio de 2020]

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

<https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/estadisticas/indicadoreseconomicoscunicultura2018/comentarios_tcm30-419676.pdf> [Consulta: 24 de abril del 2020]

OTERO, N. (2018). *Sensibilidad a las condiciones sanitaria de tres líneas de conejos.* Trabajo de fin de máster (TFM). Valencia: Universidad Politécnica de Valencia.

PASCUAL, J.J. (2010). The role of body condition on new feeding and breeding programmes for reproductive rabbit does. Proceedings of 22nd Hungarian conference on rabbit production. Kaposvar. Hungary. vol. 1, p. 11–32.

POSTHOUWER, D.; VOORBIJ, H.A.; GROBBEE, D.E.; NUMANS, M.E.; VAN DER BOM, J.G. (2004). “Influenza and pneumococcal vaccination as a model to assess C-reactive protein response to mild inflammation” en *Vaccine* 23, 362–365.

PUTZ, A. M.; HARDING, J. C.; DYCK, M. K.; CANADA, P.; FORTAIN, F.; PLASTOW, G.; et al. (2018). Novel resilience phenotypes using feed intake data from a natural disease challenge model in wean-to-finish pigs. *Front. Genet.* 9:660. doi: 10.3389/fgene.2018.00660.

RAUW, W.M.; KANIS, E.; NOORDHUIZEN-STASSEN, E.N.; GROMMERS, F.J. (1998). Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science*, vol. 56, p. 15–33.

SÁNCHEZ, J.P. (2006). Análisis genético de la longevidad en conejas de producción cárnica. Constitución y evaluación de una línea longevo-productiva de conejos. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, España. p.167.

SÁNCHEZ, J.P.; THEILGAARD, P.; MÍNGUEZ, C.; BASELGA, M. (2008). Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line. *Journal Animal Science.* vol. 86, p. 515-525.

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, p. 637–646.

THEILGAARD, P.; SÁNCHEZ, J.P.; PASCUAL, J.J.; BERG, P.; FRIGGENS, N.C.; BASELGA, M. (2007). Late reproductive senescence in a rabbit line hyper selected for reproductive longevity, and its association with body reserves. *Genetics Selection Evolution* 39, p. 207–223.

TORRES, C.; CIFRE, J.; TORRES, R. (1997). Reposición y adquisición de reproductores. *Mundo Ganadero*, vol. 93, p. 58-62.