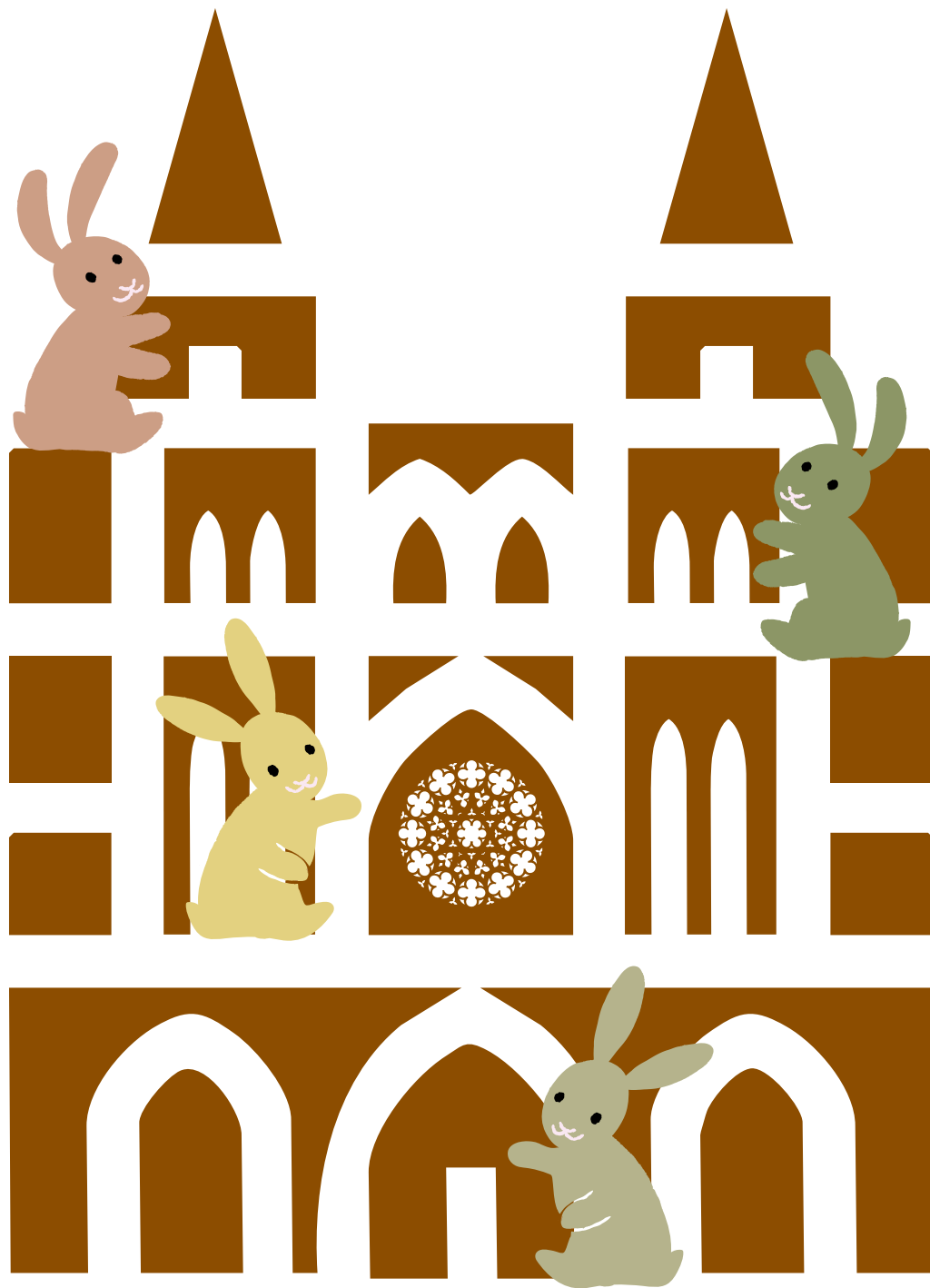




49 SYMPOSIUM DE
CUNICULTURA
BURGOS

BC

BOLETÍN DE CUNICULTURA

Sector cunícola al día

WWW.ASESCU.COM



Síguenos en las
redes sociales
de **ASESCU**

 Asescu 



 @Asescu  #

 Asescu18 

 www.asescu.com 



App de Asescu

 Disponible en Google Play

 Disponible en el App Store

LIBRO DE ACTAS

49 SYMPOSIUM DE CUNICULTURA DE ASESCU

Burgos, 28 y 29 de mayo 2025

COMITÉ ORGANIZADOR:

M^a Luz García
Pedro González
Mariam Pascual
Anna Oliveres

ORGANIZAN:



Asociación
Española de
Cunicultura



UPA
Unión de Pequeños
Agricultores y Ganaderos

PATROCINAN:



El 49 Symposium de Cunicultura de ASESCU se celebró en el Fórum Evolución de Burgos los días 28 y 29 de mayo de 2025.

El simposio fue organizado por:

Asociación Española de Cunicultura (ASESCU)

Unión de Pequeños Agricultores y Ganaderos (UPA)

Contó con el patrocinio de las siguientes empresas y organizaciones:

Laboratorios Hipra

Intercun

Gómez y Crespo

Hermi

Nanta

Biogénesis Bagó

Contó con la colaboración de las siguientes empresas:

Ph Albio

Arbocel

Andrés Pinaluba

Cogal

Cooperativa Mesenor

Coren

De Heus

Inserbo

Ebronatura

Comité organizador:

M^a Luz García

Pedro González

Mariam Pascual

Anna Oliveres

Comité Científico:

M^a Luz García

Pedro González

Mariam Pascual

Luis Ángel Quintela

Francesc Xavier Mora

María Antonia Santacreu

Nuria Nicodemus

Arantxa Villagrà

María Cambra

Javier González

Iván Agea

Los coordinadores de este libro de actas fueron:

M^a Luz García

Mariam Pascual

Pedro González

Anna Oliveres

Marta Fernández

Sandra Fernández

Edita: Editorial Agrícola Española, S.A.

C/ Caballero de Gracia, 24 3º Izda.

28013 Madrid

Edición, diseño y maquetación: Grupo Editorial Agrícola S.A.

ISBN: 978-84-17884-45-1

Depósito Legal: M-11729-2025

Presentación de la Presidenta de ASESU

Estimadas socias y estimados socios de ASESU, así como asistentes al Symposium,

Nos complace daros la bienvenida a la 49ª edición del Symposium de Cunicultura de ASESU, que celebramos en el Forum Evolución y Palacio de Congresos de la ciudad de Burgos, en esta ocasión coorganizado por la Unión de Pequeños Agricultores y Ganaderos (UPA). Como sabéis, la elección de las sedes del Symposium era una tarea que tradicionalmente realizaba nuestro querido Cefe, quien, con años de antelación, se encargaba de llevar a cabo una búsqueda exhaustiva para seleccionar el lugar más idóneo donde encontrarnos. Siguiendo su legado y el trabajo que dejó hecho, nos reunimos en esta magnífica ciudad de Burgos. Burgos se distingue por su rico y extenso patrimonio histórico, en el que sobresalen monumentos como la Catedral de Santa María la Mayor, declarada Patrimonio de la Humanidad, la Casa del Cordón, símbolo de la historia nobiliaria de la ciudad, y la Plaza Mayor, corazón del casco antiguo. A este legado monumental se suma una oferta museística de primer nivel, como el Museo de la Evolución Humana, referente internacional en el ámbito de la antropología, y el Museo de Burgos, que alberga valiosas colecciones arqueológicas y artísticas. Burgos ofrece, además, amplias zonas verdes que invitan al paseo y al disfrute del entorno natural, como el Parque del Castillo, con impresionantes vistas de la ciudad, o el apacible Paseo de la Isla, un jardín botánico junto al río Arlanzón. La ciudad también es reconocida por su gastronomía tradicional, en la que destacan productos autóctonos como la morcilla y el queso fresco. Por todo ello, os animo a disfrutar de la monumentalidad de Burgos, de sus callejuelas llenas de historias, donde podremos compartir momentos de encuentro que enriquecen aún más esta cita anual.

En esta edición hemos querido acercar, si cabe aún más, el Symposium al sector productivo. Por ello, abordaremos temáticas directamente vinculadas a las propuestas que nos habéis hecho llegar, las cuales reflejan las inquietudes actuales del sector cunícola. Uno de los temas clave será el de las enfermedades emergentes que han comenzado a aparecer tras el proceso de desmedicalización de los últimos años. Esta cuestión será tratada en una ponencia invitada a cargo de Francesc Xavier Mora, quien nos ofrecerá una visión actualizada sobre esta problemática. Contaremos también con una ponencia del profesor Ángel Quintela, de la Universidad de Santiago de Compostela, quien abordará el uso de feromonas no solo desde su tradicional aplicación en la mejora de la reproducción, sino también desde su potencial en la mejora del bienestar animal. Los avances en alojamientos cunícolas y los retos que estos plantean serán el eje de una mesa redonda, en la que participarán representantes de todos los sectores implicados: cunicultores, empresas de equipamiento, investigadores, mataderos y representantes de INTERCUN. Esta mesa será moderada por la presidenta de la WRSA, Mariam Pascual. A estas presentaciones, ya clásicas en nuestras reuniones, hemos querido incorporar este año un formato novedoso: los "cafés temáticos". En un ambiente distendido y compartiendo un café, se debatirán cuestiones de gran relevancia y conducidos por expertos, como:

- El fomento del consumo mediante productos transformados, por Santiago Miguel Casado.
- El Plan Sanitario Integral, por Mario Malo.
- Las buenas prácticas ganaderas, por Virginia Resconi.
- El uso de aditivos en alimentación, por Juanjo Pascual.

Por supuesto, los grupos de investigación nacionales, que son referentes internacionales en áreas como calidad ambiental, patología, alojamientos, bienestar, genética, reproducción y nutrición, compartirán sus últimos avances a través de comunicaciones científicas orales y presentaciones en formato póster. Los mejores trabajos presentados por jóvenes investigadores tendrán la oportunidad de optar a la séptima edición del "Premio para Jóvenes Investigadores ASESU-Andrés Pinaluba", patrocinado por Andrés Pinaluba, S.A. Este galardón, que reconoce la excelencia y la proyección de la investigación en el ámbito de la cunicultura, será entregado durante la cena de gala del Symposium.

No quisiera concluir estas palabras sin expresar mi más sincero agradecimiento a todas las empresas que apoyan la organización del Symposium. Su compromiso y patrocinio resultan fundamentales para hacer posible la celebración de este evento, y su respaldo continuo es, sin duda, una muestra del interés compartido por impulsar el desarrollo del sector cunícola.

Atentamente,

María de la Luz García Pardo
Presidenta de ASESU

PROGRAMA

PROGRAMA DEL 49 SYMPOSIUM DE CUNICULTURA

Burgos, 28 y 29 de mayo de 2025

MIÉRCOLES 28 DE MAYO

MAÑANA

- 8:00-9:30 Registro y recogida de la documentación.
- 9:30-10:00 Inauguración.
- 10:00 **PONENCIA: ¿Qué son las feromonas y cómo podemos utilizarlas a nuestro favor?** Luis Ángel Quintela Arias. Universidad de Santiago de Compostela. Modera: María Antonia Santacreu e Iván Agea.
- 10:45 **Comunicaciones libres: GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN.**
Modera: *María Antonia Santacreu e Iván Agea.*
- Efecto de la inclusión de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas sobre la producción y la calidad espermática de una línea de conejos seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada.** *Serrano-Jara D, Argente MJ, García ML.*
- Efecto de la administración del flavonoide quercetina y de la línea genética sobre la gestión de reservas corporales, la eficiencia reproductiva y productiva en conejas durante la recría y al inicio de su vida útil.** *Jordán-Rodríguez D, Vicente-Carrillo A, Fernández-González J, Pulido-Sánchez B, Blanco-Argibay SM, Gimeno Martos S, Lorenzo-González, P, García Rebollar P, García-García RM, Arias-Álvarez M.*
- Efecto de la selección genética por eficiencia alimentaria en conejo de carne sobre la digestibilidad, el balance y la excreción de nitrógeno.** *Cifuentes L, Sánchez JP, Pascual M, Piles M, Orengo J.*
- Respuesta económica a la selección por eficiencia alimentaria.** *Blasco A, Chandrababu-Shailaja C, Rodríguez-Soldevila M, Hernández P, Martínez-Álvaro M.*
- 11:45 **Pausa CAFÉ-TEMÁTICO**
- El fomento del consumo mediante productos transformados** (*Santiago Miguel Casado*).
- El Plan Sanitario Integral** (*Mario Malo*).
- Las buenas prácticas ganaderas** (*Virginia Resconi*).
- El uso de aditivos en alimentación** (*Juanjo Pascual*).
- 12:45 **Comunicación HIPRA: De las vacunas clásicas a YURVAC RHD, un gran salto tecnológico.**
- 13:00 **Comunicaciones libres: NUTRICIÓN. Modera: Nuria Nicodemus.**
- Alimentación diferenciada en gazapos lactantes: niveles de energía y proteína del pienso.** *Ramón-Moragues A, Cambra-López M, Martínez-Paredes E, Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Pascual JJ, Marín-García PJ.*
- Efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el crecimiento, la mucosa intestinal y la microbiota cecal en conejos.** *Ramón Moragues A, Marín García PJ, Martínez Paredes E,*

Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Larsen T, Pascual JJ, Cambra López M.

Optimización del perfil proteico ideal mediante metabolómica no dirigida en conejos. *Marín-García PJ, Llobat L, Cortés-García C, Cambra-López M, Blas E, Torben L, Pascual JJ, Skou-Hedemann M.*

Influencia del nivel de fibra insoluble sobre la digestibilidad y el flujo ileal de la materia seca, proteína, almidón y fibra dietética en gazapos tras el destete. *Romero C, Farias-Kovac C, Nicodemus N, García J.*

14:00 Comida de trabajo. Forum Evolución

TARDE

15:30 Comunicaciones libres: ALOJAMIENTOS Y BIENESTAR.

Moderador: *Arantxa Villagrà.*

Evaluación preliminar del efecto de feromonas apaciguadoras en el bienestar y la productividad de conejas reproductoras. *Resconi VC, Pérez Y, Bouzaida MD, Romero JV, López M, Campo MM.*

Biomarcadores del estrés por calor en dos líneas genéticas con diferente longevidad. *Biada I, Ibáñez-Escriche N, Serrano D, García ML, Argente MJ, Santacreu MA.*

Respuesta del microbiota intestinal al estrés térmico en dos líneas maternas de conejo con diferente longevidad. *Biada I, Ibáñez-Escriche N, García ML, Argente MJ, Santacreu MA.*

Transición al alojamiento en grupo de conejas en sistemas de producción comercial. *Manuelian CL, Salama AAK, Such X, Ruiz de la Torre JL, Casas C, Costa R, Mora FX.*

16:30 Pausa café.

17:00 Mesa Redonda. Avances y retos en los alojamientos cunícolas.

Beatriz Messía (representante de ERA-INTERCUN), **Santiago Miguel Casado** (representante de distribución de productos cunícolas), **Iván Alcalá** (cunicultor), **Abel Pascual** (representante comercial de alojamientos), **Arantxa Villagrà** (Investigadora).

Moderador: *Mariam Pascual.*

18:30 Visita a la Ciudad de Burgos.

21:00 Cena de gala. Silken Hotel

JUEVES 29 DE MAYO

MAÑANA

09:00 Asamblea de ASESCU

10:00 Comunicaciones libres: CALIDAD AMBIENTAL. Moderador: *María Cambra.*

Compostaje de estiércoles cunícolas: efecto de la tecnología aplicada sobre la calidad del proceso y el producto. *Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Ráñez A, Pérez-Murcia MD, Bustamante M, Moral R.*

Emisiones de gases de efecto invernadero en los procesos de compostaje de estiércoles de conejo: análisis de dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄). *Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Ráñez A, Pérez-Murcia MD, Bustamante MA, Moral R.*

Nuevos sensores para el control del amoníaco en naves de conejo. *Agea I, Serrano-Jara D, Monforte-Gómez B, Cortés-Bautista S, Argente MJ, Campíns-Falcó P, García ML.*

10:45 Pausa café.

- 11:15** **PONENCIA: Enfermedades emergentes y reemergentes en cunicultura.** *Francesc Xavier Mora Igual. Modera: Javier González.*
- 12:00** **Grupo Operativo WELFARECUN: resultados preliminares.**
- 12:15** **Comunicaciones libres: PATOLOGÍA.** *Modera: Javier González.*
- Eficacia de la inmunidad pasiva frente a RHD en gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD.** *Perozo E, Fontseca M, Acal L, Gascón-Torrens S, March R, Sitjà M.*
- Adaptación genómica de *Staphylococcus aureus* en conejos: ¿Qué hace únicas a las cepas de conejo frente a las de otros animales?** *Díaz-Méndez JF, Mascarós P, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Corpa JM, Viana D.*
- Explorando la diversidad de cepas y resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en granjas de conejos.** *Mascarós P, Díaz-Méndez JF, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Viana D, Corpa JM.*
- Caso clínico de Enteropatía proliferativa por *Lawsonia intracellularis*. ¿Qué importancia tiene en cunicultura?** *Sanz C, Sánchez del Cueto M.*
- Fusobacterium necrophorum* en cunicultura, caso clínico en una granja industrial.** *Malo M.*
- IA en cunicultura: prevención de patologías en un entorno de uso prudente de antibióticos. Un caso** *Castellnou JE, Carvalho A, Marco M, Fernandez XM.*
- 13:45** **Clausura del Symposium.**

SESIÓN DE PÓSTERES:

- Evidencia serológica de una vacunación efectiva con YURVAC RHD en 53 conejas, de diferentes grupos de edad, en una granja comercial.** *Pinto FF, Abrantes J, Ferreira PG, Lopes AM, Pereira L, Marcos R.*
- La vacunación recurrente con MIXOHIPRA®-H no reduce la respuesta pre-existente de anticuerpos frente a mixomatosis.** *Baratelli M, Prieto-Quiroga C, García-Pariente C, Gullón-Álvarez J, Sánchez-del-Cueto-Losada M, Ramirez-Oliveras S, Gascon-Torrens S.*
- Evaluación de la eficacia de YURVAC® RHD frente a una cepa de RHDV2 altamente virulenta aislada recientemente.** *Perozo E, Fontseca M, Nadal G, Montbrau C, Gascon-Torrens S, March R, Sitjà M.*
- Estudio de los sistemas de cría de mayor bienestar para conejos de engorde.** *Murphy E, Moreno García-Doncel M, Bellegarde L, Legrand A.*

ÍNDICE

Presentación de la Presidenta de ASESCU	5
--	---

Programa del Symposium	7
-------------------------------------	---

PONENCIAS

¿Qué son las feromonas y cómo podemos utilizarlas a nuestro favor?

Quintela LA, Yáñez U, Barrionuevo R, Álvarez J, Acción A, Villamayor P, Sanchez-Quinteiro P.	16
---	----

Enfermedades emergentes y reemergentes en cunicultura.

Mora FX.	23
---------------	----

Sesión de GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN

Efecto de la inclusión de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas sobre la producción y la calidad espermática de una línea de conejos seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada.

Serrano-Jara D, Argente MJ, García ML.	32
---	----

Efecto de la administración del flavonoide quercetina y de la línea genética sobre la gestión de reservas corporales, la eficiencia reproductiva y productiva en conejas durante la recría y al inicio de su vida útil.

Jordán-Rodríguez D, Vicente-Carrillo A, Fernández-González J, Pulido-Sánchez B, Blanco-Argibay SM, Gimeno Martos S, Lorenzo-González, P, García Rebollar P, García-García RM, Arias-Álvarez M.	36
---	----

Efecto de la selección genética por eficiencia alimentaria en conejo de carne sobre la digestibilidad, el balance y la excreción de nitrógeno.

Cifuentes L, Sánchez JP, Pascual M, Piles M, Orengo J.	41
---	----

Sesión de NUTRICIÓN

Alimentación diferenciada en gazapos lactantes: niveles de energía y proteína del pienso.

Ramón-Moragues A, Cambra-López M, Martínez-Paredes E, Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Pascual JJ, Marín-García PJ. 48

Efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el crecimiento, la mucosa intestinal y la microbiota cecal en conejos.

Ramón Moragues A, Marín García PJ, Martínez Paredes E, Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Larsen T, Pascual JJ, Cambra López M. 53

Optimización del perfil proteico ideal mediante metabolómica no dirigida en conejos.

Marín-García PJ, Llobat L, Cortés-García C, Cambra-López M, Blas E, Torben L, Pascual JJ, Skou-Hedemann M. 58

Influencia del nivel de fibra insoluble sobre la digestibilidad y el flujo ileal de la materia seca, proteína, almidón y fibra dietética en gazapos tras el destete.

Romero C, Farias-Kovac C, Nicodemus N, García J. 62

Sesión de ALOJAMIENTOS Y BIENESTAR

Evaluación preliminar del efecto de feromonas apaciguadoras en el bienestar y la productividad de conejas reproductoras.

Resconi VC, Pérez Y, Bouzaida MD, Romero JV, López M, Campo MM..... 68

Biomarcadores del estrés por calor en dos líneas genéticas con diferente longevidad.

Biada I, Ibáñez-Escriche N, Serrano D, García ML, Argente MJ, Santacreu MA. 72

Respuesta del microbiota intestinal al estrés térmico en dos líneas maternas de conejo con diferente longevidad.

Biada I, Ibáñez-Escriche N, García ML, Argente MJ, Santacreu MA. 76

Transición al alojamiento en grupo de conejas en sistemas de producción comercial

Manuelian CL, Salama AAK, Such X, Ruiz de la Torre JL, Casas C, Costa R, Mora FX 80

Estudio de los sistemas de cría de mayor bienestar para conejos de engorde

Murphy E, Moreno García-Doncel M, Bellegarde L, Legrand A. 85

Sesión de CALIDAD AMBIENTAL

Compostaje de estiércoles cunícolas: efecto de la tecnología aplicada sobre la calidad del proceso y el producto.

Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante M, Moral R. 92

Emisiones de gases de efecto invernadero en los procesos de compostaje de estiércoles de conejo: análisis de dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄).

Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante MA, Moral R. 96

Nuevos sensores para el control del amoníaco en naves de conejo.

Agea I, Serrano-Jara D, Monforte-Gómez B, Cortés-Bautista S, Argente MJ, Campíns-Falcó P, García ML. 99

Sesión de PATOLOGÍA

Eficacia de la inmunidad pasiva frente a RHD en gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD.

Perozo E, Fontseca M, Acal L, Gascón-Torrens S, March R, Sitjà M. 104

Adaptación genómica de *Staphylococcus aureus* en conejos: ¿Qué hace únicas a las cepas de conejo frente a las de otros animales?

Díaz-Méndez JF, Mascarós P, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Corpa JM, Viana D. 108

Explorando la diversidad de cepas y resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en granjas de conejos.

Mascarós P, Díaz-Méndez JF, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Viana D, Corpa JM. 113

Caso clínico de Enteropatía proliferativa por *Lawsonia intracellularis*. ¿Qué importancia tiene en cunicultura?

Sanz C, Sánchez del Cueto M. 118

***Fusobacterium necrophorum* en cunicultura, caso clínico en una granja industrial.**

Malo M. 122

IA en cunicultura: prevención de patologías en un entorno de uso prudente de antibióticos. Un caso

Castellnou JE, Carvalho A, Marco M, Fernandez XM. 125

La vacunación recurrente con MIXOHIPRA®-H no reduce la respuesta pre-existente de anticuerpos frente a mixomatosis.

Baratelli M, Prieto-Quiroga C, García-Pariente C, Gullón-Álvarez J, Sánchez-del-Cueto-Losada M, Ramirez-Oliveras S, Gascon-Torrens S..... 128

Evaluación de la eficacia de YURVAC® RHD frente a una cepa de RHDV2 altamente virulenta aislada recientemente.

Perozo E, Fontseca M, Nadal G, Montbrau C, Gascon-Torrens S, March R, Sitjà M..... 131

Evidencia serológica de una vacunación efectiva con YURVAC RHD en 53 conejas, de diferentes grupos de edad, en una granja comercial.

Pinto FF, Abrantes J, Ferreira PG, Lopes AM, Pereira L, Marcos R. 134

PONENCIAS

¿Qué son las feromonas y cómo podemos utilizarlas a nuestro favor?

Quintela LA, Yáñez U, Barrionuevo R, Álvarez J, Acción A, Villamayor P, Sanchez-Quinteiro P.

Enfermedades emergentes y reemergentes en cunicultura

F. Xavier Mora Igual

¿Qué son las feromonas y cómo podemos utilizarlas a nuestro favor?

What are pheromones and how can we use them to our advantage?

Quintela LA^{1*}, Yáñez U¹, Barrionuevo R¹, Álvarez J¹, Acción A¹, Villamayor P¹, Sanchez-Quinteiro P².

¹Unidad de Reproducción y Obstetricia, Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. Carballo Calero s/n, 27002 Lugo, Spain

²Unidad de Anatomía, Departamento de Anatomía, Producción Animal y Ciencias clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Avda. Carballo Calero s/n, 27002 Lugo, Spain

*luisangel.quintela@usc.es

Resumen

Las feromonas desempeñan un papel clave en la comunicación química entre los animales, facilitando procesos esenciales como la detección de peligro, la localización de alimentos y la reproducción. En esta ponencia se analiza la naturaleza de las feromonas, su mecanismo de acción y su aplicación en distintos ámbitos, como la veterinaria y la etología. Se revisan los tipos de feromonas existentes, sus efectos en diversas especies y las posibilidades de su uso para mejorar el bienestar animal y la producción ganadera. Los hallazgos sugieren que la manipulación de feromonas podría optimizar el manejo animal, reducir el estrés y mejorar la reproducción en especies domésticas. Este trabajo destaca la necesidad de continuar investigando su potencial en diferentes contextos biológicos y productivos.

Palabras clave: conejos, comunicación química, comportamiento, reproducción.

Abstract

Pheromones play a key role in chemical communication between animals, facilitating essential processes such as danger detection, food location and reproduction. This paper discusses the nature of pheromones, their mechanism of action and their use in various fields such as veterinary medicine and ethology. It reviews the types of pheromones available, their effects on different species and the potential for their use to improve animal welfare and livestock production. The results suggest that pheromone manipulation could optimise animal management, reduce stress and improve reproduction in domestic species. This work highlights the need for further research into their potential in different biological and production contexts.

Keywords: rabbits, chemical communication, behavior, reproduction.

Introducción

La comunicación entre animales de la misma o diferente especie es muy importante para su supervivencia. Por ejemplo, cuando un miembro de un grupo detecta una situación de peligro o un alimento, necesita comunicárselo a los demás para que puedan huir o dirigirse al lugar donde se encuentra el alimento. Cuando una hembra está en celo, debe comunicárselo a los machos de su especie para que la cubran y la especie pueda perpetuarse. Y existen muchas más situaciones en las que es necesaria la comunicación.

La comunicación visual y auditiva se ha estudiado mucho, probablemente porque se asemeja a la de los humanos. Sin embargo, la comunicación química ha quedado un poco atrás en esta investigación. Actualmente, gracias a las mejoras en los métodos de análisis químico, se está avanzando mucho en este sentido. Además, se ha comprobado que es posible utilizar estas señales químicas en nuestro beneficio en diferentes situaciones, lo que aporta un valor económico a estos estudios.

Hoy en día, sabemos que todos los organismos vivos utilizan señales químicas para comunicarse entre sí y con su entorno. Estas sustancias provocan una respuesta conductual o fisiológica específica en los receptores, ya sean plantas o animales. A las sustancias químicas que emite un ser vivo y que afectan

al comportamiento de otros individuos se les denomina semioquímicos. Los semioquímicos se dividen en dos categorías:

- Alelomonas, sirven para la comunicación entre especies: en este caso tenemos tres tipos diferentes:
- Alomonas, su efecto beneficia al organismo que las emite. Un ejemplo muy conocido son las secreciones repelentes de algunos animales, como es el caso de las mofetas, con el objetivo de ahuyentar a los depredadores.
- Cairomonas, su efecto beneficia al organismo que las recibe. Este es el caso de sustancias que emite una presa y que atraen a los depredadores.
- Sinomonas, en este caso el beneficio es para el emisor y el receptor. Un ejemplo de esto es la relación entre el pez payaso y la anémona de mar, las sustancias atraen al pez payaso que es inmune al veneno de la anémona y este a cambio de la protección contra depredadores, limpia su huésped de parásitos y otras sustancias.
- Feromonas, sirven para la comunicación con animales de la misma especie y son el objeto de esta ponencia, por lo que a partir de este momento nos centraremos en este grupo de señales químicas.

Las Feromonas se han identificado en la mayoría de los filos animales, lo que hace probable que la mayoría de las especies las utilicen para comunicarse (Wyatt, 2003, 2009).

Una de las primeras referencias a las feromonas en la literatura científica se produjo en 1932, cuando Jasentkovski colocó hembras vírgenes en trampas ubicadas en bosques infestados por polillas gitanas y observó que, tras unas horas, esas trampas estaban llenas de machos, lo que sugería que la causa era la señalización química. Actualmente, uno de los principales intereses que suscitan estas sustancias es utilizarlas en la lucha biológica contra las plagas. La OMS y la FAO tienen como una de sus prioridades minimizar el uso de pesticidas sintéticos en los agroecosistemas y las feromonas son una de las potenciales opciones para ello. Es importante destacar que estos organismos consideran las feromonas como productos naturales y, por lo tanto, seguros.

Sin embargo, las feromonas tienen muchas otras aplicaciones que pueden resultar de interés en la producción animal, y es en este aspecto en el que queremos hacer hincapié en este artículo.

Antes de comenzar a hablar de sus posibles usos, debemos entender cómo funcionan. En primer lugar, indicar que existen diferentes tipos de feromonas: de agresión, de alarma, de reunión, etc. Pero las que muestran más interés en el campo de la producción animal son las feromonas sexuales o de reproducción. Uno de los efectos más conocidos de estas feromonas es indicar la disponibilidad de las hembras para la reproducción.

¿Dónde se producen las feromonas?

Las feromonas son secretadas por el cuerpo a través de diversos fluidos corporales y excrementos. Generalmente, la orina, las heces, las secreciones cervicales y vaginales, así como la secreción de las glándulas exocrinas, son las principales fuentes de feromonas en los vertebrados (Rivard y Klemm, 1989).

En el caso de los conejos, las principales glándulas/secreciones identificadas como productoras/transportadoras de feromonas son:

- **La glándula mentoniana:** es una glándula cutánea situada en el mentón que los conejos de ambos sexos utilizan para marcar objetos del entorno. Es probablemente la glándula más estudiada del conejo. Presenta dimorfismo sexual en conejos adultos: es más grande en machos que en hembras. Su secreción se utiliza principalmente para señalar la dominancia social (Hayes, 2003). Estudios preliminares, aún no publicados, de nuestro grupo indican que, aparte del dimorfismo morfológico, probablemente existen diferencias en el contenido proteico y la expresión de genes entre machos y hembras. Esta glándula aumenta de tamaño y es más activa durante el periodo reproductivo, por lo que puede ser una candidata interesante para su estudio desde el punto de vista reproductivo.
- **Las glándulas anales:** se trata de unas glándulas situadas en la parte terminal del recto de forma que su secreción impregna las heces. Parece ser responsable de mantener el olor del grupo.
- **La glándula de Harder:** se trata de una glándula situada en la órbita ocular cuya secreción, unida a la de otras glándulas de la zona colabora en la formación de las lágrimas (Honkanen et al., 2019). Esta glándula se ha ca-

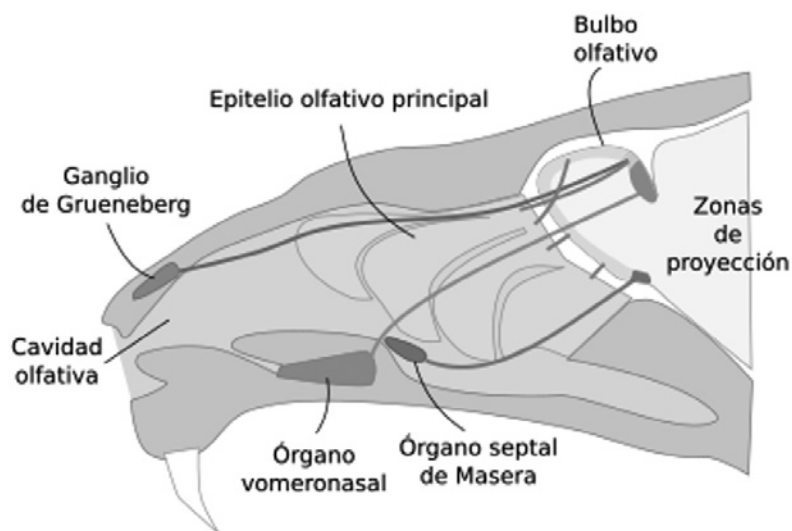
racterizado como un órgano productor de melatonina y en su composición también se ha detectado un componente lipídico. Aunque no existen estudios al respecto en conejos, se ha demostrado que las secreciones de esta glándula presentan dimorfismo sexual en otras especies (Santillo *et al.*, 2020; Seyama y Uchijima, 2007).

- **La glándula mamaria:** en esta glándula, al igual que en el resto de los mamíferos, se produce y almacena la leche para amamantar a las crías. Sin embargo, en el caso del conejo, existen una serie de glándulas sebáceas en el pezón que producen la denominada feromona mamaria, implicada en la supervivencia de los gazapos recién nacidos.
- **Las glándulas inguinales:** son glándulas situadas en la zona inguinal responsables del olor característico de estos animales. No se sabe mucho de ellas, pero se cree que su funcionamiento está regulado por las hormonas esteroideas (Melo y González-Mariscal, 2010), lo que podría relacionarlas con la reproducción.
- **La orina:** la orina es la mayor fuente de feromonas conocida y, en otras especies, se ha observado una relación entre la exposición a orina y efectos en la reproducción. Sin embargo, en el caso de los conejos existen muy pocos estudios y los existentes no son concluyentes. Es el caso de un estudio llevado a cabo por nuestro grupo, en el que se compararon los parámetros reproductivos de hembras expuestas a orina de otras hembras o de machos frente a hembras no expuestas. Aunque los resultados muestran un incremento de la fertilidad, sobre todo en las expuestas a orina de macho (95,4 % frente al 92,1 % del grupo expuesto a orina de macho y el grupo de control, respectivamente), estas diferencias no fueron significativas probablemente debido a la buena fertilidad habitual de la granja en la que se realizaron los experimentos.

Regulación y mecanismo de acción:

Aunque estamos hablando de sustancias químicas y relacionamos esto con el olfato, el sistema de detección de las feromonas sigue una vía diferente al de los olores habituales. En la **Figura 1** se muestra una sección sagital (o longitudinal) de la cavidad nasal de una rata. En esa imagen se destaca el epitelio olfativo principal, que es el que capta los olores habituales, y, más pequeño y en la parte inferior, el órgano vomeronasal (OVN), que está especializado en detectar señales químicas específicas de cada especie, es decir, feromonas. El OVN contiene receptores neuronales que se activan mediante ligandos o feromonas específicos, que probablemente desencadenan una cascada de respuestas neuroendocrinas innatas (Patra, 2012).

Figura 1. Representación esquemática de una sección parasagital parte de la cabeza de un ratón que muestra los diferentes receptores olfativos y sus proyecciones a los bulbos (Salazar y Sánchez Quinteiro, 2009).

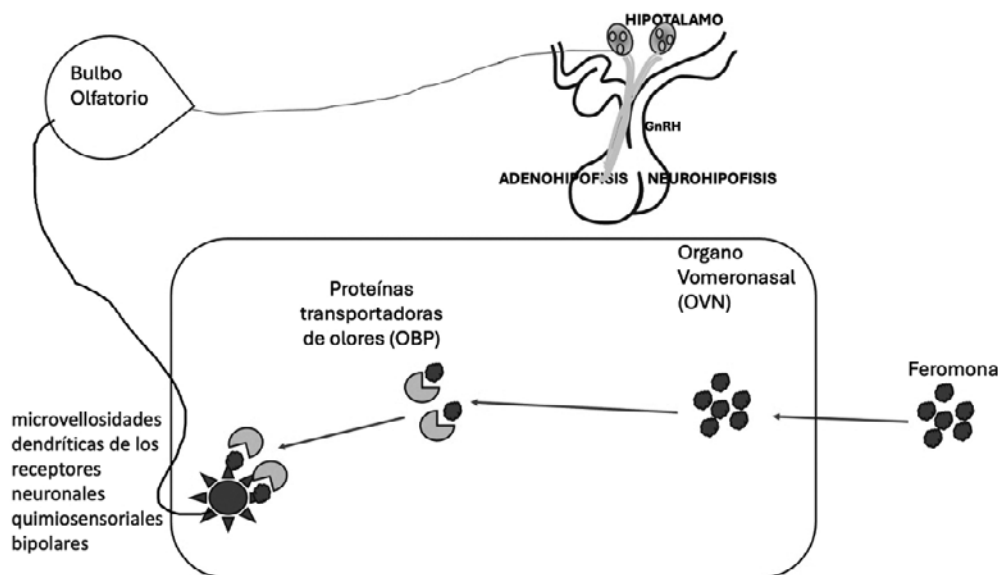


Las feromonas, previamente disueltas en moco, son reconocidas por neuronas sensoriales vomeronasales específicas en una interacción que inicia una cascada de transducción y culmina en la generación de potenciales de acción que se transmiten a lo largo de proyecciones axonales hasta el bulbo olfatorio accesorio (Halpern, 2003). Una vez unidas, las proteínas transportadoras de olores (OBP) solubilizan y transportan las feromonas a las microvellosidades dendríticas de los receptores neuronales quimiosensoriales del OVN.

Estas neuronas poseen la capacidad de codificar la intensidad del estímulo. Cuando el estímulo alcanza un umbral determinado, activa una subpoblación de neuronas, lo que genera un potencial de acción y transmi-

te una potente señal electroquímica al bulbo olfativo. Desde él, esta señal puede estimular el hipotálamo, provocando una respuesta neuroendocrina específica para la subpoblación de neuronas activadas en el OVN (**Figura 2**). Los efectos reproductivos están mediados principalmente por la liberación de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LH-RH) en el hipotálamo (Kekan *et al.*, 2017).

Figura 2. Representación esquemática del estímulo de las feromonas sobre el eje Hipotálamo-hipófisis-gónadas.



En un estudio morfológico e inmunohistoquímico reciente del OVN, se concluye que en el conejo está altamente desarrollado, con muchas características morfológicas específicas, lo que nos lleva a pensar que la comunicación química juega un papel importante en esta especie (Villamayor *et al.*, 2018).

Efectos de las feromonas sexuales en diferentes especies de producción:

1.- Bovino: es posiblemente en la especie en la que se ha trabajado menos en este aspecto comparado con otras especies. Sin embargo, existen estudios que apoyan la hipótesis de que la exposición de novillas prepúberes a machos adultos pueden reducir la edad de inicio de la pubertad (Izard y Vandenberg, 1982). De forma similar, se ha hipotetizado que la exposición a machos adultos o a su orina puede reducir el anestro (Patra, 2012).

También se ha comprobado que la feromona (Z)-7-dodecen-1-il-acetato, presentes en altas concentraciones en la orina de vacas en celo provocan importantes respuestas conductuales en los machos (Rasmussen *et al.*, 1982; Rasmussen *et al.*, 1996, 1997).

2.- Pequeños rumiantes: igual que sucede en bovino, en los pequeños rumiantes se ha demostrado que la exposición a machos adultos acelera el inicio de la pubertad e induce el estro en animales en anestro estacional, sincronizando incluso la ovulación (Knight *et al.*, 1978). Un efecto similar se puede conseguir mediante la exposición a orina, lana o cera de los carneros (Knight y Lynch, 1980). De forma similar, las feromonas secretadas a través de la lana, la cera y las secreciones vaginales de las ovejas en celo atraen a los machos (Kekan *et al.*, 2017).

Otro efecto de las feromonas demostrado en el caso de las ovejas es su intervención en el reconocimiento materno de las crías, esencial para que la madre cree un vínculo y acepte a su descendencia (Nowak *et al.*, 2011).

3.- Porcino: igual que en los casos anteriores, se ha comprobado el efecto del macho sobre el inicio de la pubertad (Dyck, 1988), el anestro lactacional (Izard, 1983) y el momento en el que se produce el primer celo postdestete (Soede, 1993).

Sin embargo, en verracos, al contrario que en la mayoría de las especies de producción, existen una serie de feromonas perfectamente identificadas y que se utilizan habitualmente en las explotaciones porcinas. Es el

caso de la 5 α -androstenona y el 3 α -androstenol, que se liberan en la saliva y estimulan el reflejo de inmovilización en las cerdas. (Wani *et al.*, 2013). Los productos BoarBetter® y Boar Mate® contienen estas feromonas y se utilizan para la detección del celo. Otra feromona identificada es la apaciguadora porcina, es importante en las interacciones entre madres y crías, ya que reduce la agresión y las respuestas al estrés en cerdos jóvenes y adultos (Temple *et al.*, 2016) comercializada con el nombre comercial de SecurePig®, se utiliza en el postparto e incrementa la ganancia de peso diaria y reduce la mortalidad.

4.- Conejos: en conejos, la feromona más estudiada es la feromona mamaria 2-methylbut-2-enal (2MB). Esta feromona, producida en el pezón de la hembra lactante ayuda a los recién nacidos a encontrar la glándula mamaria y estimula la succión (Schaal *et al.*, 2003; Moncomble *et al.*, 2005). En este caso, sin embargo, la detección de esta feromona en conejos parece ser a través del epitelio olfativo principal y poco o nada a través del OVN, lo que es un hecho excepcional, tal como relatan los autores del trabajo que lleva a esta conclusión (Charra *et al.*, 2012).

Otra feromona conocida y, en este caso, comercializada en conejos en algún momento es la feromona apaciguadora (Lapezil®), que tiene cierta similitud a la ya descrita en los cerdos. Un estudio preliminar realizado en animales de granja mostró que los animales tratados parecían más tranquilos y mejoraban ciertos parámetros reproductivos como la fertilidad, el tamaño de camada y la viabilidad al nacer (Bouvier y Jacquinet, 2008). Sin embargo, no existen más estudios al respecto hasta el 2024 en el que se publica una investigación sobre el efecto de esta feromona, aunque solo sobre el estrés (Asproni *et al.*, 2024).

En lo que se refiere a la reproducción, igual que, en otras especies, las conejas dependen principalmente de las señales olfativas para atraer a los machos. En la época de apareamiento, la coneja frota el mentón sobre los objetos que la rodean depositando secreciones de esta glándula. Este comportamiento aparece en los periodos de receptividad sexual y disminuye cuando existe una pareja sexual disponible (González-Mariscal *et al.*, 1990; Hudson y Vodermyer, 1992). Durante el apareamiento, los conejos intercambian señales olfativas, olfateándose o incluso marcando al otro individuo. Estas señales son las responsables de que la coneja adopte la postura adecuada para el apareamiento y el macho reconozca que está preparada para la reproducción (Fusi, 1994). En este sentido, un estudio reciente realizado por nuestro grupo exponiendo a machos, antes de la recogida del semen, a orina de hembras receptivas, 2-phenoxyetanol (sustancia producida en la glándula mentoniana) y secreciones vaginales de hembras receptivas, la calidad del semen aumento significativamente en todos los casos, pero principalmente en aquellos expuestos al 2-phenoxyetanol y las secreciones vaginales (**Tabla 1**) (Villamayor *et al.*, 2024).

Tabla 1. Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis (Media $\pm$ DE) incluyendo setenta y siete muestras de semen, obtenidas de conejos reproductores que fueron expuestos a orina de hembra (Grupo A), 2-fenoxietanol (Grupo B), hisopo vaginal (Grupo C) o agua destilada (Grupo D), conservadas a 16°C y analizadas dentro de las 8 horas posteriores a la recolección utilizando el sistema CASA (Villamayor *et al.*, 2024).

Parámetros	Grupo Experimental			
	(A) Orina de hembra	(B) 2-phenoxyethanol	(C) Hisopo vaginal	(D) Agua destilada
VOL (mL)	0.94 $\pm$ 0.29 ^a	1.02 $\pm$ 0.26 ^{ab}	1.23 $\pm$ 0.42 ^b	1.38 $\pm$ 0.58 ^b
Concentración (M/mL)	1173.47 $\pm$ 400.32 ^a	897.78 $\pm$ 328.07 ^{ab}	1112.22 $\pm$ 332.45 ^a	797.50 $\pm$ 466.55 ^b
Tiempo de respuesta (S)	2.96 $\pm$ 2.32 ^a	3.03 $\pm$ 2.09 ^a	3.89 $\pm$ 3.57 ^a	3.02 $\pm$ 1.05 ^a
Motilidad total (%)	70.15 $\pm$ 23.50 ^a	49.15 $\pm$ 33.93 ^a	51.80 $\pm$ 32.14 ^a	22.65 $\pm$ 23.69 ^b
Espermatozoides rogresivos totales (%)	55.06 $\pm$ 22.16 ^a	39.20 $\pm$ 30.16 ^a	39.23 $\pm$ 27.81 ^a	15.97 $\pm$ 19.04 ^b
Espermatozoides rápidos progresivos (%)	21.86 $\pm$ 11.26 ^a	19.14 $\pm$ 17.76 ^a	17.39 $\pm$ 12.08 ^a	7.17 $\pm$ 9.01 ^b
Espermatozoides medios progresivos (%)	33.20 $\pm$ 14.16 ^a	20.06 $\pm$ 13.87 ^b	21.84 $\pm$ 17.10 ^b	8.81 $\pm$ 10.51 ^c
Espermatozoides no progresivos (%)	15.09 $\pm$ 4.27 ^a	9.95 $\pm$ 4.69 ^b	12.57 $\pm$ 6.79 ^a	6.68 $\pm$ 5.80 ^b
Espermatozoides Inmóviles (%)	29.85 $\pm$ 23.50 ^a	50.85 $\pm$ 33.93 ^a	48.21 $\pm$ 32.14 ^a	77.35 $\pm$ 23.69 ^b

Diferentes letras en superíndice indican diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$). VOL: volumen; S: segundos

En las diferentes especies mencionadas anteriormente, el mecanismo por el cual las feromonas afectan a la reproducción es a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, incrementando los niveles de LH, el número de receptores de LH, etc (Patra, 2012; Wani *et al.*, 2013). En el caso de los conejos, puede que el mecanismo sea

similar ya que en el estudio de Villamayor et al. (2024) mencionado anteriormente en machos, se observó, aunque en este caso no de forma estadísticamente significativa, un incremento de la Testosterona posterior a la exposición, principalmente, a secreciones vaginales.

En conclusión, las feromonas intervienen de forma relevante en el comportamiento reproductivo de la mayoría de los mamíferos. Son esenciales para que los individuos de un sexo reconozcan a los del otro que están disponibles para el apareamiento, para indicar el momento oportuno para el apareamiento y para preparar a los animales de ambos sexos para el apareamiento. Hemos visto, además, que las feromonas aceleran el inicio de la pubertad, reducen los anestros posparto y estacionales y pueden llegar a sincronizar el celo y la ovulación en un grupo de hembras. La mayoría de estos efectos, si se pudieran controlar, serían útiles en la producción animal; sin embargo, todavía falta mucho para identificar todas las feromonas responsables y poder sintetizarlas y utilizarlas a nuestro favor.

Financiación

Este estudio está financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (España) (ref: PID2021-127814OB-I00).

Bibliografía

- Asproni, P., Codecasa, E., Marcet-Rius, M., Demellier, J., Descout, E., Verbaere, M., Vinck, O., Pageat, P., Cozzi, A. 2024. Helping Rabbits Cope with Veterinary Acts and Vaccine-Related Stress: The Effects of the Rabbit Appeasing Pheromone (RAP). *Animals*, 14(23), 3549. <https://doi.org/10.3390/ani14233549>
- Bouvier AC, Jacquinet C. 2008. Pheromone in rabbits: Preliminary technical results on farm use in France. <https://cabidigitallibrary.org>
- Charra, R., Datiche, F., Casthano, A., Gigot, V., Schaal, B., Coureaud, G. 2012. Brain processing of the mammary pheromone in newborn rabbits. *Behavioural Brain Research*, 226(1), 179-188. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.008>
- Dyck, G. W. 1988. Factors influencing sexual maturation, puberty and reproductive efficiency in the gilt. *Canadian Journal of Animal Science*, 68(1), 1-13. <https://doi.org/10.4141/cjas88-001>
- Fusi, A. (1994). El comportamiento sexual del conejo. In *Cunicultura* (Vol. 19, pp. 297-299).
- González-Mariscal, G., Melo, A. I., Zavala, A., Beyer, C. 1990. Variations in chin-marking behavior of New Zealand female rabbits throughout the whole reproductive cycle. *Physiology & Behavior*, 48(2), 361-365. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90328-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90328-2)
- Halpern, M. 2003. Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Progress in Neurobiology*, 70(3), 245-318. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(03\)00103-5](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(03)00103-5)
- Hayes, R. A. 2003. To fix or not to fix: the role of 2-phenoxyethanol in rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, chin gland secretion. *Journal of Chemical Ecology*, 29(5), 1051-1064. <https://doi.org/10.1023/A:1023836319677>
- Honkanen, R., Huang, W., Huang, L., Kaplowitz, K., Weissbart, S., & Rigas, B. (2019). A New Rabbit Model of Chronic Dry Eye Disease Induced by Complete Surgical Dacryoadenectomy. *Current Eye Research*, 44(8), 863-872. <https://doi.org/10.1080/02713683.2019.1594933>
- Hudson, R., & Vodermayr, T. 1992. Spontaneous and odour-induced chin marking in domestic female rabbits. *Animal Behaviour*, 43(2), 329-336. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80228-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80228-3)
- Izard, M. K. 1983. Pheromones and Reproduction in Domestic Animals. In *Pheromones and Reproduction in Mammals* (pp. 253-281).
- Izard, M. K., & Vandenbergh, J. G. 1982. The Effects of Bull Urine on Puberty and Calving Date in Crossbred Beef Heifers. *Journal of Animal Science*, 55(5), 1160-1168. <https://doi.org/10.2527/jas1982.5551160x>
- Kekan, P. M., Ingole, S. D., Sirsat, S. D., Bharucha, S. V., Kharde, S. D., & Nagvekar, A. S. 2017. The role of pheromones in farm animals - A review. *Agricultural Reviews*, 38(02). <https://doi.org/10.18805/ag.v38i02.7939>
- Knight, T. W., & Lynch, P. R. 1980. Source of ram pheromones that stimulate ovulation in the ewe. *Animal Reproduction Science*, 3(2), 133-136. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(80\)90040-8](https://doi.org/10.1016/0378-4320(80)90040-8)
- Knight, T. W., Peterson, A. J., & Payne, E. 1978. The ovarian and hormonal response of the ewe to stimulation by the ram early in the breeding season. *Theriogenology*, 10(5), 343-353. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(78\)90038-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(78)90038-9)
- Melo, A. I., & González-Mariscal, G. 2010. Communication by Olfactory Signals in Rabbits (pp. 351-371). [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(10\)83015-8](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)83015-8)
- Moncomble, A. S., Coureaud, G., Quennedey, B., Langlois, D., Perrier, G., & Schaal, B. 2005. The mammary pheromone of the rabbit: From where does it come? *Animal Behaviour*, 69(1), 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2004.05.006>

- Nowak, R., Keller, M., & Lévy, F. 2011. Mother-Young Relationships in Sheep: A Model for a Multidisciplinary Approach of the Study of Attachment in Mammals. *Journal of Neuroendocrinology*, 23(11), 1042-1053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02205.x>
- Patra M.K., B. P., K. H. 2012. Potential Application of Pheromones in Reproduction of Farm Animals A Review. *Agricultural Reviews*, 33(1), 82-86.
- Rasmussen, L. E. L., Lee, T. D., Roelofs, W. L., Zhang, A., & Daves, G. D. 1996. Insect pheromone in elephants. *Nature*, 379(6567), 684-684. <https://doi.org/10.1038/379684a0>
- Rasmussen, L. E. L., Lee, T. D., Zhang, A., Roelofs, W. L., & Daves, G. D. 1997. Purification, Identification, Concentration and Bioactivity of (Z)-7-Dodecen-1-yl Acetate: Sex Pheromone of the Female Asian Elephant, *Elephas maximus*. *Chemical Senses*, 22(4), 417-437. <https://doi.org/10.1093/chemse/22.4.417>
- Rasmussen, L. E., Schmidt, M. J., Henneous, R., Groves, D., & Daves, G. D. 1982. Asian Bull Elephants: Flehmen-Like Responses to Extractable Components in Female Elephant Estrous Urine. *Science*, 217(4555), 159-162. <https://doi.org/10.1126/science.7089549>
- Rivard, G., & Klemm, W. R. 1989. Two body fluids containing bovine estrous pheromone(s). *Chemical Senses*, 14(2), 273-279. <https://doi.org/10.1093/chemse/14.2.273>
- Salazar, I., & Sánchez Quinteiro, P. 2009. The risk of extrapolation in neuroanatomy: the case of the mammalian accessory olfactory bulb. *Frontiers in Neuroanatomy*, 3. <https://doi.org/10.3389/neuro.05.022.2009>
- Santillo, A., Chieffi Baccari, G., Minucci, S., Falvo, S., Venditti, M., & Di Matteo, L. 2020. The Harderian gland: Endocrine function and hormonal control. *General and Comparative Endocrinology*, 297. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113548>
- Schaal, B., Coureaud, G., Langlois, D., Giniès, C., Sémon, E., & Perrier, G. 2003. Chemical and behavioural characterization of the rabbit mammary pheromone. *Nature*, 424(6944), 68-72. <https://doi.org/10.1038/nature01739>
- Seyama, Y., & Uchijima, Y. 2007. Novel function of lipids as a pheromone from the Harderian gland of golden hamster. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 83(3), 77-96. <https://doi.org/10.2183/pjab.83.77>
- Soede, N. M. 1993. Boar stimuli around insemination affect reproductive processes in pigs: A review. *Animal Reproduction Science*, 32(1-2), 107-125. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90062-V](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90062-V)
- Temple, D., Barthélémy, H., Mainau, E., Cozzi, A., Amat, M., Canozzi, M. E., Pageat, P., & Manteca, X. 2016. Preliminary findings on the effect of the pig appeasing pheromone in a slow releasing block on the welfare of pigs at weaning. *Porcine Health Management*, 2(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40813-016-0030-5>
- Villamayor, P. R., Cifuentes, J. M., Fdz.-de-Troconiz, P., & Sanchez-Quinteiro, P. 2018. Morphological and immunohistochemical study of the rabbit vomeronasal organ. *Journal of Anatomy*, 233(6), 814-827. <https://doi.org/10.1111/joa.12884>
- Villamayor, P. R., Yáñez, U., Gullón, J., Sánchez-Quinteiro, P., Peña, A. I., Becerra, J. J., Herradón, P. G., Martínez, P., & Quintela, L. A. 2024. Biostimulation methods based on chemical communication improve semen quality in male breeder rabbits. *Theriogenology*, 230, 165-173. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.09.016>
- Wani, A., Angad, G., & Shafi, T. A. 2013. The role of pheromones in animal reproduction-A review. <https://www.researchgate.net/publication/257759492>
- Wyatt, T. D. 2003. Animals in a chemical world. In *Pheromones and Animal Behaviour* (pp. 1-22). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511615061.002>
- Wyatt, T. D. 2009. Fifty years of pheromones. *Nature*, 457(7227), 262-263. <https://doi.org/10.1038/457262a>

Enfermedades emergentes y reemergentes en cunicultura

Emerging and re-emerging diseases in rabbit farming

F. Xavier Mora Igual

Profesor Asociado UAB Veterinaria. Dept. Ciencia Animal i dels Aliments, UAB, 08193 Cerdanyola del Vallés, España.
asvetxm@gmail.com

Resumen

En los últimos años se ha venido produciendo la aparición de nuevas enfermedades que afectan a los conejos que poco a poco van aumentando su presencia en las granjas cunícolas. No son enfermedades nuevas, sino que es en la mayoría de casos un resurgimiento con mayor letalidad de estas enfermedades condicionada en muchos casos por las nuevas ordenanzas locales que restringen el uso de antibióticos a usos terapéuticos exclusivamente excluyendo el uso preventivo. Entre ellas las que destacan es el aumento de frecuencia de *Enterococcus hirae*, *Salmonella sp* la aparición de quistes hidatídicos, *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico y una cepa altamente multirresistente de *E. Coli* que encontramos en las granjas cunícolas. Estas enfermedades, llamadas emergentes por su relativamente reciente presencia en las instalaciones cunícolas se van sumando a las patologías más comunes asociadas en cunicultura y, en forma mayoritaria aparecen formando cuadros mixtos con ellas.

Palabras clave: conejo, enfermedades emergentes, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus hirae*, *E. Coli*, quiste hidatídico, *Salmonella sp*.

Abstract

In recent years, new diseases affecting rabbits have emerged, gradually increasing their presence on rabbit farms. These are not new diseases, but in most cases represent a resurgence of existing diseases with a higher fatality rate. This is often influenced by new local ordinances that restrict the use of antibiotics to therapeutic purposes only, excluding preventive use. Among them, the increase in the frequency of *Enterococcus hirae* and *Salmonella sp.*, the appearance of hydatid cysts, enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*, and a highly multi-resistant strain of *E. coli* found on rabbit farms stand out. These diseases, called emerging due to their relatively recent presence in rabbit farms, are joining the most common associated pathologies in rabbit farming. They mostly occur in mixed presentations with these diseases.

Keywords: rabbit, emerged diseases, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus hirae*, *E. Coli*, hydatid cysts, *Salmonella sp*.

La cunicultura profesional viene afrontando en los últimos años un aumento de patologías en las granjas debido a los cambios en el eficaz sistema de trabajo preventivo que se realizaba anteriormente y que se basaba en el uso de antibacterianos en los momentos o puntos críticos de la producción.

Debido a la desaparición total de ese sistema de prevención, han surgido una serie de patologías que eran directamente desconocidas o de muy baja presencia en la cunicultura profesional y que producen procesos sanitarios altamente patógenos con incidencias elevadas de forma puntual pero que se cronifican en las instalaciones siendo de difícil control sanitario.

Básicamente son enfermedades de origen bacteriano siendo algunas de ellas pertenecientes a la microflora bacteriana del aparato digestivo que han adquirido capacidad patógena y se han sumado a la panoplia de enfermedades infecciosas que afectan al conejo europeo.

Entre ellas destacan:

- *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico
- Enterococosis
- Salmonelosis
- Quistes hidatídicos
- Colibacilosis no-eae multiresistente

***Bacteroides fragilis* enterotoxigénico**

Es una bacteria Gram-negativa en forma de bacilo y anaerobia que es normalmente comensal en los mamíferos, y también por tanto en el conejo, constituyendo parte de la microbiota gastrointestinal donde juegan un importante papel en el procesamiento de moléculas complejas como los polisacáridos de origen vegetal.

Como patógenos acostumbran a ser oportunistas, sin embargo, su potencial patógeno en cunicultura va en aumento con un incremento de casos anuales diagnosticados. Antes del 2018, yo no había diagnosticado ningún caso, mientras que en el 2024 han sido 7 los casos diagnosticados. No obstante, hay descritos en la bibliografía casos en 1981, lo que indica que posiblemente la mejora en el diagnóstico puede haber influenciado.

Su diagnóstico no es sencillo ya que al ser anaerobio no crece en las placas de petri en condiciones de aerobiosis, sin embargo, la técnica PCR es altamente efectiva en su diagnóstico. Esto puede dificultar su diagnóstico laboratorial a menos que se indique la realización de la técnica PCR.

Son bacterias que son capaces de inhibir la fagocitosis e inactivar algunos antibióticos como los betalactámicos. En general son altamente resistentes a una amplia variedad de antibióticos, especialmente a los aminoglucósidos y tetraciclinas, así como algunos macrólidos y también lincomicinas, siendo habitual tener perfiles de antibiograma con múltiples multiresistencias, muy a menudo totales con halos de 0 mm de diámetro.

Parte de su potencial patógeno se debe a la secreción de una toxina proteica termolábil extracelular que tiene dos actividades biológicas:

- Estimulación de la secreción en los intestinos
- Alteración de la morfología de las líneas celulares epiteliales que se redondean y se hinchan debido a que altera el citoesqueleto de las células epiteliales.

No deja de ser curiosa que aparezca como gérmenes multiresistentes cuando los niveles de uso de antimicrobianos están por los suelos. Este nivel de resistencia antibiótica produce una gran preocupación pues son capaces de transferir esta resistencia a otras especies bacterianas como *E.coli* mucho más patógenas.

El proceso empieza en gazapos de unos 14 días y afecta hasta los 28 días de vida siendo la mortalidad de los nidos afectados muy alta, alcanzando el 75% con facilidad, Además los animales sobrevivientes no "funcionan" bien en el engorde y se han visto animales de 3 meses afectados cuando han habido brotes intensos en lactancia, llegando incluso a sospecharse de alguna reproductora, aunque en estos últimos casos la sintomatología es muy confusa ya que se aprecian una mezcla con *E. coli* que no clarifica en ningún modo el proceso.

La sintomatología digestiva es de unos intestinos delgados ligeramente aumentados con contenido acuoso-mucoso y un ciego no muy aumentado de tamaño con un contenido acuoso de color amarillento en unos gazapos que la diarrea no es especialmente profusa a la inspección externa, aunque sí de color amarillento.

Las paredes intestinales se encuentran ligeramente aumentadas de tamaño y con el gazapo ligeramente hinchado y el contenido del estómago acostumbra a estar lleno de leche.

Se observa en lactantes provenientes de conejas de todas las edades, aunque son especialmente sensibles las conejas de primer parto, pudiéndose detectar que en el 40% de los casos una coneja afectada repite el proceso en el siguiente parto, por lo que la eliminación de reproductoras con nidos afectados es importante para el control de la enfermedad.

La elaboración de autovacunas es muy eficaz para controlar el proceso que de otra forma es muy difícil de gestionar ya que su respuesta a tratamientos con antimicrobianos es desesperante.

No deja de ser curioso que *Bacteroides fragilis* es una de las bacterias que más estudios tiene como uso en forma de probiótico para ayudar en los problemas gastrointestinales en cunicultura y otras especies de mamíferos.

Enterococosis

Enfermedad producida por *Enterococcus hirae*, una bacteria coco Gram + anaerobia facultativa que vive en parejas o formando cadenas. Se trata de microorganismos que son considerados no patógenos y que se localizan en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, en la bibliografía se encuentran abundantes descripciones de procesos producidos por él en varias especies animales.

Su primera descripción en cunicultura se hizo en 2008 en el Symposium de Calahorra y su incidencia, aunque baja, va aumentando ligeramente cada año. Muy probablemente se deba a la mejora en el diagnóstico por parte de laboratorios de análisis y a su mayor conocimiento a nivel de campo por parte de los veterinarios.

Generalmente afecta a gazapos de entre 5 y 8 días de vida con una tasa de mortalidad elevada. Los gazapos supervivientes presentan un aspecto de alopecia generalizada en todo el cuerpo hacia los 20 días de vida afectando principalmente a las camadas provenientes de conejas de primer parto.

La principal dificultad en su diagnóstico es la poca especificidad de las lesiones en los gazapos afectados, afectando al aparato digestivo en forma de un proceso entérico muy general, con presencia de contenido acuoso en intestinos delgados y ciego.

El rasgo más distintivo de este proceso es la presencia de animales alopécicos alrededor de los 18-20 días de vida de forma manifiesta acompañada de una mortalidad precedente elevada (superior al 25% en las camadas afectadas).

El hecho que las conejas primíparas sean las más afectadas viene probablemente condicionado a la falta de defensas de las reproductoras en ese momento por no haber tenido contacto con el microorganismo, mientras que las múltiparas ya deben generar suficientes defensas para traspasarlas a sus gazapos para evitar el proceso infeccioso, aunque el proceso infeccioso sigue siendo agresivo en estos gazapos lactantes provenientes de conejos múltiparas.

Algunas cepas de *Enterococcus hirae* tienen factores de virulencia descritos y entre ellos su potencial de formación de biofilm es en el conejo uno de los principales. Esta capacidad de formar biofilm les hace ser muy resistentes a las desinfecciones y a permanecer en las naves reinfectando a nuevas camadas.

Las resistencias que presentan son muy variadas con algunos casos de resistencias amplias a antimicrobianos mientras que en otras son más bien escasas, sin embargo, en todos los casos la respuesta a los tratamientos con antimicrobianos es más bien escasa. Diversos estudios han encontrado diversos genes de resistencia a antimicrobianos incluso de cepas aisladas de conejos silvestres.

Klebsielosis

La *Klebsielosis* es una enfermedad infectocontagiosa producida por *Klebsiella pneumoniae* y que hasta hace relativamente poco tiempo se le consideraba una bacteria oportunista. Sin embargo, en los últimos años están surgiendo casos en los que claramente se presenta como el agente patógeno puro con crecimientos masivos y aislamientos únicos en el proceso.

Anteriormente se encontraba en un porcentaje muy elevado asociado a *E. coli* en los aislamientos que se encontraban en los laboratorios. En las últimas décadas del siglo XX el diagnóstico se dificultaba porque algunos laboratorios no identificaban la bacteria como potencialmente patógena y no aparecía en los resultados de la analítica.

En los últimos 5 años su prevalencia como causa primaria ha aumentado de forma lenta pero sin pausa. En el 2004 EXOPOL publicaba que alrededor del 4% de los animales que llegaban al laboratorio eran positivos a *Klebsiella* y que de ellos el 19% eran casos de procesos puros.

Tabla 1. Número de casos diagnosticados de *Klebsiella* en procesos puros en los periodos correspondientes registrados en mis visitas diarias.

1990-1999	2000-2009	2010-2014	2015-2019	2020	2022	2023	2024
9	6	5	7	6	9	12	11

Esta bacteria es una enterobacteria bacilar Gram negativa inmóvil que se encuentra de forma ubicua en la flora respiratoria y digestiva de muchas especies animales de sangre caliente aislándose de los pulmones, aparato digestivo y hígado de los conejos afectados. Hay que tener en cuenta que es una bacteria que se puede transmitir a los humanos provocando neumonías siendo por tanto una posible zoonosis y, que por el mismo motivo, puede transmitir desde los humanos a los animales.

Su virulencia viene vehiculada por la presencia de un factor de adhesión mediante el pili tipo 1 y 3 que promueve su adhesión al epitelio, células inmunitarias y superficies abióticas así como la presencia de polisacáridos en la cápsula y del gen LPS que envuelve la cápsula con un camuflaje muy efectivo que engaña al sistema inmune.

Afecta principalmente a gazapos de 15 a 28 días de vida, aunque no es raro de observar también en el periodo de cebo, sobre todo cuando la afección en los lactantes ha sido elevada.

El proceso se presenta de forma aguda en los lactantes cronicándose en el cebo afectando al sistema digestivo con una enteritis serosa hemorrágica en intestino delgado con abundante contenido y una tiflitis moderada con contenido seroso y habitualmente marronoso o rojizo. El estómago se encuentra indefectiblemente lleno de leche y los pulmones pueden presentar ligeras zonas consolidadas de neumonía e incluso se observan edemas en la zona pleural.

Muy habitual es encontrar el hígado decolorado y friable con una coloración amarillenta bastante remarcada que llega a ser patognomónico de este proceso, así como un bazo aumentado de tamaño.

En la maternidad el proceso pasa totalmente desapercibido excepto en algunos casos que se pueden apreciar abortos a mitad de lactación cursando de forma general con una presentación subclínica inaparente.

La transmisión de la enfermedad se genera en las reproductoras portadoras (aparentemente sanas) que transmiten la enfermedad hacia los gazapos jóvenes del nido. De la misma forma la revisión de nidales afectados comporta la transmisión por el operador de otros nidales sanos, igual que el proceso de adopción de animales que genera un riesgo intrínseco de diseminación de la bacteria.

En la bibliografía se cita que el contagio tiene lugar el primer día de vida ya que los pezones están contaminados por las excreciones que hay en el nidal o en la jaula transmitiendo el proceso desde el inicio del ciclo.

El diagnóstico no es muy evidente en la necropsia, aunque algunos signos, como la decoloración del hígado, pueden hacer sospechar con fuerza la presencia del patógeno, pero sin duda es el aislamiento en un laboratorio quién confirmará las sospechas de la participación de *Klebsiella* en el proceso. No es necesario el uso de medios enriquecidos para su aislamiento lo que favorece su identificación. En las últimas décadas del siglo XX el diagnóstico se dificultaba porque algunos laboratorios no identificaban la bacteria como potencialmente patógena y no aparecía en los resultados de la analítica.

Hay que resaltar que cuando en una instalación se ha detectado un brote de *Klebsiella*, no es infrecuente que haya recidivas al cabo de un par de años o, por otra parte, que se sigan encontrando casos aislados de gazapos muertos compatibles por necropsia con el patógeno durante un periodo de tiempo largo (en algunos casos hasta 5 años tengo documentados).

Esto hace suponer que la bacteria sigue presente de forma inaparente en los animales con el riesgo que conlleva, principalmente en situaciones agresivas como cambios de tiempo o periodos de estrés inmunosupresivo que favorezcan la diseminación y multiplicación del patógeno reapareciendo el proceso con virulencia.

La prevención pasa por un control estricto del nidal, intentado igualar lo mínimo a los animales en el momento del nacimiento y señalar la reproductora cuando en un nidal se aprecia una disminución del creci-

miento de los gazapos -es el primer signo de que el proceso está afectando a los gazapos- para su posterior eliminación., así como una desinfección periódica, sobre todo cuando se aprecien signos de alteración en un nidal, de las manos o guantes cada pocos nidales.

Se recomienda el NO igualar camadas a menos que sea imprescindible, ubicando todos los gazapos sobrantes en reproductoras concretas o reaprovechando reproductoras marcadas para eliminar por causas reproductivas que todavía tengan leche en el momento del destete.

Debido a la dificultad de deducir la causa primaria de la infección, se recomienda una campaña anti roedores muy estricta ya que pueden ser una de las causas de transmisión de la enfermedad, ya sea contaminando el pienso, el agua, los nidos propiamente o el material de los nidales.

La higiene en el nidal es por tanto un factor muy importante para controlar la explosión de la enfermedad, siendo muy útil una prevención en la forma de pulverizar un desinfectante por encima del material del nido una vez que este esté arreglado. De la misma forma al detectar un nidal húmedo se debe renovar todo el material de este pulverizando desinfectante y volviendo a ubicar los gazapos en el nido recién hecho, aconsejándose el utilizar un nidal nuevo en lugar del viejo.

La *Klebsiella* es una bacteria que entra dentro de las bacterias de infección intrahospitalaria y que tiene difícil control por su resistencia debido al gen blaKPC, que es una enzima que aporta amplias resistencias a numerosos antibióticos. Esto hace que sea importante el obtener un antibiograma mediante el análisis laboratorial que nos indique cuales son los antibacterianos más eficaces para controlar el proceso, siendo la Colistina el que sobresale por su eficacia seguido de la Apramicina y la colistina.

Riñones poliquísticos

Este es un proceso que yo sólo he visto cinco casos en los tres últimos años. Tres de ellos estaban relacionados entre sí ya que una de las granjas afectadas vendía reproductores a una segunda granja y esta segunda vendía animales de cebo para futuras reproductoras a una tercera granja.

El cuarto caso apareció en Portugal sin ninguna relación con los anteriores, comprobando incluso que hasta las vacunas de mixomatosis y vírica eran diferentes en la búsqueda de factores comunes.

El quinto caso lo encontré en una granja sin ninguna relación con las anteriores y a más de 500 km de distancia de todas las anteriores.

En la bibliografía de cunicultura la información al respecto es muy escueta y/o hna sido observados con poca frecuencia, de modo que apenas he sabido encontrar alguna referencia a este proceso. Consultando fuentes universitarias la respuesta siempre fue la misma: Causa Genética.

Esta causa como origen del problema no me pareció demasiado concluyente, aunque si está muy documentada en otras especies, ya que, si fuera así, debería haber localizado más granjas cunícolas con este proceso y este no debería haber aparecido de la noche a la mañana sin más.

Los casos que nos ocupan aparecieron de forma súbita y empezaron en periodo invernal en casi todos ellos en gazapos de engorde en el momento del sacrificio.

El proceso es totalmente inaparente sin mortalidad, pero con cierta desigualdad en el crecimiento de los gazapos donde se aprecia un aumento de los saldos o, dicho con mayor propiedad, un aumento del porcentaje de los gazapos que apenas llega al peso de sacrificio.

No se observa ningún signo a la necropsia excepto por la aparición de vesículas llenas de contenido acuoso en el riñón conformando lo que se denomina el riñón poliquístico. Estas vesículas o quistes pueden ser solitarios de gran tamaño o muy numerosos de variados tamaños, llegando a alcanzar los 2cm en algunos casos.

Sus paredes son delgadas y transparentes con un contenido acuoso transparente pudiendo sobresalir de la superficie o estar dentro del parénquima del riñón. Estas vesículas pueden ir creciendo con el tiempo y la bibliografía cita problemas en el desarrollo del tubo colector.

El porcentaje de casos en el momento del sacrificio oscilaba entre el 10 y el 30% de los gazapos de cada lote, aunque cuando los lotes se enviaban en diferentes envíos al centro de sacrificio, los animales del último envío alcanzaban en ocasiones el 50% de los riñones afectados.

El proceso cursa siempre con los dos riñones afectados, solo en muy contadas ocasiones se ha observado afectación en un riñón únicamente y, a nivel de centro de sacrificio, genera unas pérdidas importantes por los decomisos parciales -los riñones- o, en algún caso, el decomiso total de la canal por no alcanzar el peso de comercialización.

Estos quistes, ya sean de origen congénito o no, va produciendo una pérdida de la función renal que produce estos efectos en el crecimiento y que probablemente puede llegar a ser letal con el tiempo.

Sin embargo, la causa congénita no me satisfacía y por ello envié sistemáticamente a varios laboratorios muestras de contenido cecal y de riñón sin que dieran resultado positivo a nada, lo que agravaba la sospecha de un proceso genético como origen y asimismo se necropsiaron gazapos en el periodo de lactación para buscar las lesiones sin poder encontrarlas en los gazapos lactantes.

Ante la dificultad del diagnóstico se buscó similitudes con otras especies, queriendo apreciar similitudes con la basquilla de las ovejas, proceso producido por bacterias del género *Clostridium*.

Finalmente se decidió en 4 granjas realizar un tratamiento frente a *Clostridium* utilizando en cada caso un antimicrobiano diferente con reconocida acción frente a bacterias del género en concreto tratando las maternidades y el cebo simultáneamente.

En los tratamientos realizados en el periodo de cebo no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de animales afectados ni de su gravedad, sin embargo, en los tratamientos efectuados a maternidad el efecto fue muy contundente. Disminuyó o prácticamente desapareció la presencia de riñones poliquísticos de los gazapos destetados nacidos después de los tratamientos en maternidad.

No por ello, sin embargo, se puede confirmar que el proceso sea vehiculado por una bacteria del género *Clostridium*, pero sí parece sensato sospechar la presencia de un germen bacteriano además de causas de origen genético.

Salmonelosis

La Salmonelosis es producida por gérmenes del género *Salmonella*, enterobacterias Gram negativas dotadas de flagelos peritricos que constituyen un grupo importante de bacterias patógenas para los vertebrados y habitan habitualmente en el intestino de las especies afectadas. Hay que tener en cuenta que es una zoonosis y que su transmisión puede ser alimentaria al ingerir alimento contaminado por parte de los humanos.

No es una bacteria que esté especializada en cunicultura sino más bien lo contrario, pudiéndose localizar con relativa facilidad el origen de un proceso infeccioso por ellas en una granja pudiéndose restringir casi a 4 opciones:

- Granja avícola de gallinas o cebaderos de pollo.
- Granja porcina.
- Entrada de aves en la granja.
- Presencia de roedores.

Sin ser exclusiva, la presencia de *Salmonella typhimurium* nos orientará de forma bastante clara hacia un origen por parte de roedores (ratones y ratas y/o topillos) en la granja que se podrá comprobar con abundantes restos de heces de ratones o ratas en la granja y sobre todo en los nidales.

Por contra *Salmonella enteritidis* o *arizona* nos orientará más a un origen avícola sin descartar un origen por una granja cercana de porcino.

Es un proceso que siempre se ha visto algún caso cada año o se ha tenido referencia de ello, que sin embargo en los años 2023 y 2024 han aumentado. En mi caso de prácticamente 1 caso al año a 4 y 5 casos

respectivamente teniendo constancia de cierto aumento de casos también en colegas. Remarcar que la presencia de *Salmonella* en algunas analíticas sin previa sospecha de su presencia y aparentemente sin tener más importancia clínica también han aumentado.

En un trabajo portugués realizado sobre conejo silvestre se detectó que el 48% de las heces de conejos muestreadas daban positivo a la presencia de *Salmonella*.

La virulencia de *Salmonella* viene dada por un sistema secretor especializado (denominado tipo III) común con otras enterobacterias que utilizan para inyectar ciertas proteínas dentro de las células eucariotas que promueven su virulencia y establece un nicho para la multiplicación de la bacteria intracelularmente.

Tiene un periodo de incubación de entre 1 día y 5 días excretándose en grandes cantidades de bacterias por las heces que contagiarán de forma importante a los otros animales.

En cunicultura se presentan generalmente en 3 cuadros clínicos dependiendo su presentación a la edad de los animales afectados.

En gazapos lactantes el cuadro clínico es una diarrea amarillenta con una alta tasa de mortalidad en los nidales afectados que en la necropsia se aprecian los intestinos alterados con contenido hemorrágico a menudo y el ciego con una diarrea amarillenta líquida con contenido hemorrágico y hemorragias en la pared intestinal, aunque el síntoma más significativo es la presencia de focos necróticos en el apéndice cecal y en la válvula ileo-cecal de forma abundante, que sin embargo hay que tener en cuenta que no son exclusivos de la enfermedad, aunque sí muy sospechosos de su presencia. El bazo se encuentra siempre muy aumentado de tamaño y el hígado presenta una cierta decoloración amarillenta.

En maternidades suelen provocar abortos visibles en el último tercio de gestación en los que se puede apreciar los fetos en estado de cierta putrefacción en la jaula o suelo y, quedando la coneja, en un estado de abatimiento y secreciones sanguinolentas por el parto genital. A la palpación y necropsia se pueden observar las metritis generadas y es frecuente observar neumonías, purulentas o no, con aumento del tamaño del bazo y decoloración del hígado. En ocasiones se puede observar puntos necróticos en el hígado y también en ocasiones puede observar peritonitis.

En engorde y en maternidad, es decir animales con cierta edad, la Salmonelosis se presenta en forma digestiva con un cuadro difícil de diferenciar generalmente de una colibacilosis, con un contenido líquido del ciego y una cierta alteración, importante en ocasiones, de los intestinos delgados, pudiendo presentar las necrosis en el ciego y válvula ileo-cecal que, de forma mayoritaria, se presentan en forma de pequeñas cantidades de puntos necróticos.

Colibacilosis no-eae patógeno

La colibacilosis es una enfermedad causada por la enterobacteria *Escherichia coli* que tiene forma bacilar y es móvil, ya sea con uno o varios flagelos y que debe su patogenicidad a la presencia de endotoxinas y exotoxinas por un lado y a la capacidad de adherirse a la mucosa digestiva.

Su presencia es habitual en el tracto digestivo de los mamíferos y el hecho que produzcan enfermedad se deben a la patogenicidad de las cepas bacterianas por un lado y a las condiciones de manejo.

Entre los condicionantes de manejo destacar la importancia de la alimentación, edad del destete, condiciones de la instalación-densidad-ventilación, estado inmunitario de las reproductoras, etc.

Desde hace unos pocos años está habiendo un cierto aumento de cepas de colibacilos NO-eae, es decir, que no tienen el gen eae de patogenicidad, que habitualmente es el gen que define a las cepas enteropatógenas en cunicultura. Esta cepa tiene una morbilidad muy alta, superior al 40% y una mortalidad que supera el 30% de los animales afectados llegando a alcanzar valores del 70% de mortalidad de los animales afectados.

Su presencia está aumentando a nivel de campo hasta llegar a un 50% de las cepas de *E.coli* que se analizan, aunque esto se debe tratar con cuidado, ya que generalmente solo se envían a laboratorio las cepas más

patógenas que se ven en el campo, siendo los procesos más banales tratados sin problemática y por tanto no se envían a analizar.

Su principal característica es su velocidad de transmisión y su acto de presencia, pues su mortalidad aparece hacia los 33 días de vida -en maternidad- y se prolonga hasta los 50 días de vida con una curva ascendente de gazapos afectados y mortalidad muy elevada.

A la necropsia se aprecia los signos clínicos habituales de cualquier colibacilosis, con contenido acuoso en el ciego y alteración en los intestinos delgados que aparecen ligeramente aumentados de tamaño con algunas hemorragias y contenido acuoso.

Externamente no se diferencias tampoco de cualquier proceso colibacilar, con una diarrea profusa y líquida que dejan la cola en la conocida descripción de cola de ratón y unos animales apáticos, en postura encorvada antiálgida y que ensucian mucho la jaula y otros animales, generalmente en los rincones de las jaulas.

La principal diferencia con otras cepas es su total resistencia contra gran número de antibióticos, con abundantes presencias de "0" en las mediciones de resistencia en los antibiogramas, lo que hace muy difícil su tratamiento efectivo. Este hecho genera a menudo una situación delicada, ya que una cepa con resistencia a casi todo antibiótico pero que no lleva consigo el gen eae conduce a discusiones sobre si es patógeno o no. Sin embargo, a nivel de granjas es incontestable su patogenicidad.

La maternidad es sin duda alguna portadora de este colibacilo, viéndose afectada en menor grado, pero que presentan situaciones de pérdida de peso generalizado y ensuciamiento de jaulas-reposapiés.

El contagio tiene lugar en el nidal a temprana edad y más especialmente alrededor de los 18 días de vida, aunque con toda certeza también antes.

Se ha probado de trasladar gazapos de una nave afectada a otra sin afectar de gazapos de 12 días de vida y se ha reproducido la enfermedad en los gazapos trasladados. Muy posiblemente el *coli* es dependiente de la ingesta de pienso y cuando esta alcanza cierto nivel se desarrolla. La lactación puede proteger a los gazapos hasta cierto punto, ya que a los 32-33 días ya empieza el proceso estén lactando o no.

Para el control del patógeno no funciona las restricciones de pienso ni los pienso ricos en fibra, sino que más bien parece lo contrario. Piensos muy ricos en fibra y bajos en almidones parecen tener un efecto negativo sobre su control.

Es importantísimo asegurar el nivel de cloro en el agua, ya que su evolución indica claramente que el agua es una vía de contaminación, apreciándose en analíticas con bajos niveles de cloro residual la presencia de coliformes en el agua, lo que podría indicar una cierta resistencia o capacidad de supervivencia de estos *colis*.

No se aprecian diferencias entre gazapos provenientes de primerizas que de multíparas, aunque la separación en el cebo de gazapos provenientes de primerizas y de gazapos de bajo peso respecto de los demás consigue que la mortalidad sea ligeramente inferior, sobre todo porque la mortalidad en las primerizas no aumenta respecto a las multíparas y, incluso en ocasiones, el proceso aparece más tarde en estos que en las multíparas.

La separación de animales enfermos es muy importante en las primeras fases para controlar la virulencia del proceso, siempre y cuando, que no siempre se piensa, los animales afectados se ubiquen en jaulas enfermería al final de la línea de agua. En un caso que se ubicaron al inicio de la línea de agua, esa línea en concreto alcanzó el 45% de mortalidad mientras que el resto fue del 22%, justo el doble.

GENÉTICA Y REPRODUCCIÓN

Efecto de la inclusión de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas sobre la producción y la calidad espermática de una línea de conejos seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada

Serrano-Jara D, Argente MJ, García ML

Efecto de la administración del flavonoide quercetina y de la línea genética sobre la gestión de reservas corporales, la eficiencia reproductiva y productiva en conejas durante la recría y al inicio de su vida útil

Jordán-Rodríguez D, Vicente-Carrillo A, Fernández-González J, Pulido-Sánchez B, Blanco-Argibay

Efecto de la selección genética por eficiencia alimentaria en conejo de carne sobre la digestibilidad, el balance y la excreción de nitrógeno

Cifuentes L, Sánchez JP, Pascual M, Piles M, Orengo J

Efecto de la inclusión de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas sobre la producción y la calidad espermática de una línea de conejos seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada

Effect of the inclusion of a postbiotic based on lactic acid bacteria on sperm production and sperm quality in a line of rabbits selected to homogenise litter size

Serrano-Jara D*, Argente MJ, García ML

Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández de Elche, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental, CIAGRO-UMH, 03312, Orihuela, España.

*d.serrano@umh.es

Resumen

Este estudio evaluó el efecto de la inclusión en la dieta de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas en la producción espermática y en la motilidad de la 17ª generación de una línea de conejos seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada. Se utilizaron 20 conejos divididos en dos grupos: Control (alimentación estándar) y Tratamiento (dieta con postbiótico). El número total de muestras fue de 100. Se midió el volumen de eyaculado, la ingestión de pienso y el peso de los machos. Se analizó la producción y la concentración, así como la motilidad mediante el porcentaje de espermatozoides móviles, progresivos, rápidos progresivos, medios progresivos y no progresivos del semen utilizando el sistema CASA (Sperm Class Analyzer 6.6.59, Microptic, España). A partir de la producción se estimó el potencial de dosis. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó estadística bayesiana. El grupo Tratamiento mostró un aumento significativo en el volumen de eyaculado y en la producción total de espermatozoides ($P > 90\%$). Esto podría incrementar la eficiencia de la inseminación artificial al aumentar el número de dosis producidas por eyaculado. El postbiótico no afectó a la motilidad de los espermatozoides. En conclusión, la inclusión del postbiótico en la dieta tuvo un impacto positivo en la reproducción, sin embargo, su impacto sobre la fertilidad debe estudiarse en mayor profundidad.

Palabras clave: conejo, análisis espermático, postbiótico.

Abstract

This research evaluated the effect of including a postbiotic based on lactic acid bacteria in the diet on sperm production and motility in the 17th generation of a rabbit line selected to homogenize litter size. Twenty rabbits were used, divided into two groups: Control (standard diet) and Treatment (diet with postbiotic). The total number of samples was 100. Ejaculate volume, feed intake, and male weight were measured. Sperm production, concentration, and motility were analyzed, including motile, progressive, rapidly progressive, medium progressive, and non-progressive sperm, using the CASA system (Sperm Class Analyzer 6.6.59, Microptic, Spain). The dose potential was estimated. Bayesian statistics were used to analyze the obtained data. The Treatment group showed a significant increase in ejaculate volume and total sperm production ($P > 90\%$). This could enhance the efficiency of artificial insemination by increasing the number of doses produced per ejaculate. The postbiotic did not affect sperm motility. In conclusion, the inclusion of the postbiotic in the diet had a positive impact on reproduction; however, its effect on fertility should be studied in greater depth.

Keywords: rabbit, sperm analysis, postbiotic.

Introducción

El mayor conocimiento en las ciencias biológicas, unido al desarrollo tecnológico, ha permitido un mayor control de los procesos biológicos vinculados a la reproducción animal (Paal et al., 2014). La inseminación

artificial (IA) es un ejemplo de esta integración (Vishwanath, 2003). En la producción animal en general, y en la cunicultura en particular, la IA ha traído grandes avances: mejora genética, control de enfermedades y rentabilidad en la inseminación (Laurinčík et al., 2008). La posibilidad de inseminar un gran número de hembras a partir de un solo eyaculado tiene un gran interés comercial (Lavara et al., 2005).

La calidad del semen se puede evaluar a través de varios parámetros (Ducci et al., 2002; Farrell et al., 1998). La motilidad espermática ha sido descrita como la característica más importante en relación con la fertilidad en los machos (Eimers et al., 1994). Un buen movimiento facilita el desplazamiento de los espermatozoides en el tracto genital y la fertilización del gameto femenino (Robayo et al., 2008). El número total de espermatozoides móviles se ha relacionado con la tasa de nacimientos en el conejo (Brun et al., 2002). Otros parámetros, como la concentración espermática, también se han vinculado con la fertilidad (Farrell et al., 1998; Fréour et al., 2010). El análisis de estos parámetros permite estimar la fertilidad potencial de las dosis seminales (Lavara et al., 2008). El análisis computarizado del semen (*Computer Assisted Semen Analysis*, CASA) permite tanto un análisis cuantitativo (producción espermática) como cualitativo (motilidad y cinética) del semen (Farrell et al., 1993; Lavara et al., 2005).

En 2019, la ISAPP definió "postbiótico" como un preparado de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped (Salminen et al., 2021). En producción bovina, avicultura y porcicultura, los postbióticos son utilizados para mejorar la salud intestinal (como sustitutos preventivos de los antibióticos), sus parámetros productivos y la calidad del producto transformado (Zamojska et al., 2021; Chang et al., 2004). En cunicultura, sin embargo, no existe mucha bibliografía sobre el uso general de postbióticos en la alimentación, y sobre su efecto particular en el estatus reproductivo. Ensayos *in vitro* con espermatozoides de humano y de ratón han mostrado que la exposición a una alta concentración de postbiótico de *Lactobacillus rhamnosus* puede afectar negativamente a la progresividad del movimiento (Liu et al., 2024; Kotarska, 2024). El único estudio publicado en conejos muestra una disminución en el porcentaje de anomalías morfológicas en los espermatozoides del grupo alimentado con una dieta enriquecida con un postbiótico (García et al., 2021).

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de un postbiótico sobre la producción espermática y la calidad de su movimiento a través del sistema CASA en la 17ª generación de una línea genética seleccionada para homogeneizar el tamaño de la camada.

Material y métodos

Los procedimientos experimentales con animales han sido aprobados por la Dirección General de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Generalitat Valenciana con código 2022/VSC/PEA/0226.

Desarrollo experimental

El estudio se desarrolló en la granja de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández. Las instalaciones utilizadas fueron de ambiente controlado y fotoperiodo de 16:8.

Se utilizaron 20 conejos pertenecientes a la 17ª generación de una línea genética seleccionada para homogeneizar el tamaño de la camada (Blasco et al., 2017). Los conejos se dividieron en dos grupos: Control (con una dieta comercial) y Tratamiento (con la inclusión del postbiótico en la dieta). El peso medio de los conejos fue de 3,33 kg. La alimentación con el postbiótico comenzó el 12 de junio de 2024.

El semen se obtuvo a primera hora de la mañana mediante la utilización de una vagina artificial previamente calentada a 45°C. Se recogieron un total de 100 muestras distribuidas a lo largo de 5 semanas, comenzando el 12 de julio y finalizando el 6 de septiembre de 2024. Junto a cada muestreo se realizó un control del consumo de pienso y del peso de los animales.

Se registró el volumen de semen recogido, una vez retirado el gel en aquellas muestras que estaban presente. El semen fue diluido 1:15 con una dilución de Tris-cítrico-glucosa y se utilizó el sistema CASA (Sperm Class Analyzer 6.6.59, Microptic, Barcelona, España) para la realización de una valoración cuantitativa (producción y concentración) y cualitativa (movimiento). Los parámetros de motilidad fueron porcentaje de móviles, de progresivos, de rápidos progresivos, de medios progresivos y de no progresivos. Por cada muestra se analizó un mínimo de 5 campos y 200 espermatozoides. La ratio frame a frame (s) del software fue de 50. Se estimó

el potencial de dosis como número de dosis que se pueden obtener de una muestra a partir de la producción total y estimando 20 M de espermatozoides/dosis.

Análisis estadístico

El modelo utilizado para la evaluación espermática incluyó el efecto grupo en 2 niveles (Control o Tratamiento). Se incluyó la semana de toma de muestras como efecto ruido, el animal como efecto aleatorio y su peso como covariable.

Para el control de los parámetros productivos, en el caso del peso, también se incluyó el efecto grupo en 2 niveles, la semana como efecto ruido y el animal como efecto aleatorio. Para el consumo, se incluyó el efecto grupo en 2 niveles, el animal como efecto aleatorio y el peso como covariable.

Se utilizó el programa Rabbit desarrollado por la Universitat Politècnica de València.

Resultados y discusión

En cuanto a la valoración espermática, la inclusión del postbiótico mostró un efecto beneficioso sobre el volumen del eyaculado, así como sobre la producción de espermatozoides ($P > 90\%$). Este resultado tiene implicaciones prácticas de gran interés, pues el potencial de dosis que se podrían preparar a partir de una muestra obtenida de machos alimentados con el postbióticos sería 11, mientras que en el grupo control sería de 5. Los parámetros relativos al movimiento no se vieron afectados por el tipo de alimentación.

El semen del conejo está compuesto por el plasma seminal y los espermatozoides. El plasma seminal se forma a partir de las secreciones de diversas glándulas accesorias del tracto reproductivo (epidídimo, próstata, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales). Su función no es únicamente transportar a los espermatozoides, también mantiene la viabilidad espermática, protege contra el estrés oxidativo, facilita el movimiento de los espermatozoides y modifica la respuesta inmunológica de la hembra para favorecer la fertilización (Hasan *et al.*, 2007; de Graaf *et al.*, 2014; Bianchi *et al.*, 2018). En este sentido, un incremento del volumen de semen en la eyaculación se corresponde con un incremento del volumen de plasma seminal, pudiendo mejorar la viabilidad espermática y favorecer la fecundación. Sin embargo, es necesario estudiar la composición del plasma seminal para determinar que fracción relativa a los macronutrientes presentes en el plasma se modifican con la inclusión del postbiótico en la dieta.

Tabla 1. Resultados de la valoración espermática

Grupo	V (ml)	C (M/ml)	PT (M)	PD	MO (%)	P (%)	RP (%)	MP (%)	NP (%)
Control	0,56	256,48	143,62	7	76,55	57,58	20,92	36,77	18,71
SD	0,08	55,94	61,87	3	4,77	6,76	2,73	4,77	2,18
Tratamiento	0,70	281,01	196,71	10	75,96	53,65	17,36	36,42	22,28
SD	0,08	56,65	61,55	3	4,99	6,65	2,70	4,74	2,24
P (%)	91	64	90	90	53	67	83	53	87

V: volumen. C: concentración. PT: producción total. PD: potencial de dosis. MO: móviles. P: progresivos. RP: rápidos progresivos. MP: medios progresivos. NP: no progresivos. P: probabilidad de que las diferencias encontradas sean distintas de 0.

La inclusión del postbiótico en la dieta no influyó en el peso de los animales. El grupo control presentó un menor consumo medio diario que el grupo alimentado con el postbiótico ($P = 95$), sin embargo, la diferencia entre grupos no fue relevante, al ser de 9,04 gramos/día.

Tabla 2. Resultados del control de los parámetros productivos.

Grupo	V (ml)	C (M/ml)
Control	0,56	256,48
SD	0,08	55,94
Tratamiento	0,70	281,01
SD	0,08	56,65
P (%)	91	64

CMD: consumo medio diario. P: probabilidad de que las diferencias encontradas sean distintas de 0.

En conclusión, la inclusión de un postbiótico basado en bacterias ácido-lácticas mejora la producción espermática sin afectar a la motilidad en una línea genética de conejo seleccionada para homogeneizar el tamaño de la camada. Sin embargo, su impacto sobre la fertilidad debe estudiarse en mayor profundidad.

Agradecimientos: agradecemos a las instituciones (Unión Europea y Generalitat Valenciana) implicadas en AGRO-ALNEXT/2022/037 que han proporcionado los fondos necesarios (PRTR-C17.I1) para la ejecución del proyecto.

Bibliografía

- Bianchi L, Carnemolla C, Viviani V, Landi C, Pavone V, Luddi A, Piomboni P, Bini L. 2018. Soluble protein fraction of human seminal plasma. *J Proteomics* 174:85-100.
- Blasco A, Martínez-Álvoro M, García ML, Ibáñez-Escriche N, Argente MJ. 2017. Selection for environmental variance of litter size in rabbits. *Genet Sel*, 49(1), 1-8.
- Brun JM, Theau-Clément M, Bolet G. 2002. The relationship between rabbit semen characteristics and reproductive performance after artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 70:139-149.
- García-Pardo ML, Díaz JV, Argente MJ. 2021. Effect of postbiotic based on lactic acid bacteria on semen quality and health of male rabbits. *Animals* 11:1007.
- Chang J, Jia X, Liu Y, Jiang X, Che L, Lin Y, Zhuo Y, Feng B, Fang Z, Li J, Hua L, Wang J, Ren Z, Wu D, Xu S. 2024. Microbial mechanistic insight into the role of yeast-derived postbiotics in improving sow reproductive performance in late gestation and lactation sows. *Animals (Basel)* 14:162
- de Graaf SP, Rickard JP, Pini T, Druart X, Leahy T. 2014. Emerging roles of seminal plasma in sperm function and male fertility. *Reproduction* 148: R173-R184.
- Ducci M, Gazzano A, Villani C, Cela V, Artini PG, Martelli F, Genazzani AR. 2002. Membrane integrity evaluation in rabbit spermatozoa. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 102:53-56.
- Eimers JM, te Velde ER, Gerritse R, Vogelzang ET, Looman CWN, Habbema JDF. 1994. The prediction of the chance to conceive in subfertile couples. *Fertil Steril* 61:44-52.
- Farrell PB, Foote RH, Simkin ME, Clegg ED, Wall RJ. 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated, and fertility in rabbits. *J Androl* 14:464-471.
- Farrell PB, Presicce GA, Brockett CC, Foote RH. 1998. Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. *Theriogenology* 49:871-879.
- Fréour T, Jean M, Mirallié S, Dubourdiou S, Barrière P. 2010. Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) parameters and their evolution during preparation as predictors of pregnancy in intrauterine insemination with frozen-thawed donor semen cycles. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 149:186-189.
- Hassan MI, Kumar V, Singh TP, Yadav S. 2007. Purification and characterization of a zinc α 2-glycoprotein-like protein from human seminal plasma. *J Sep Sci* 30:1969-1977.
- Kotarska K. 2024. Moderate concentration of *Lactobacillus* metabolites does not adversely affect mouse sperm. *Syst Biol Reprod Med* 70:124-130.
- Laurinčík J, Chrenek P, Christiansen SB, Gamborg CH, Luck MR, Maddox-Hyttel P, Makarevich A, Niemann H, Petrovičová I, Rasmussen MA. 2008. *Animal biotechnology*. ŠEVT As, Bratislava.
- Lavara R, Mocé E, Lavara F, de Castro MPV, Vicente JS. 2005. Do parameters of seminal quality correlate with the results of on-farm inseminations in rabbits? *Theriogenology* 64:1130-1141.
- Lavara R, García ML, Torres C, Vicente JS, Baselga M. 2008. Genetic parameters for semen traits of rabbit males: II. Motility. *En Proc. 9th World Rabbit Congress, Verona, Italy*, 159-162.
- Liu S, Alipour H, Zachar V, Kesmodel US, Dardmeh F. 2024. Effect of postbiotics derived from *Lactobacillus rhamnosus* PB01 (DSM 14870) on sperm quality: a prospective in vitro study. *Nutrients* 16:1781.
- Paal D, Kročková J, Ondruška L, Slanina T, Strejček F, Massanyi P. 2014. Effect of semen collection frequency on the progress in the motility of rabbit spermatozoa. *Slovak J Anim Sci* 47:61-67.
- Robayo I, Montenegro V, Valdés C, Cox JF. 2008. CASA assessment of kinematic parameters of ram spermatozoa and their relationship to migration efficiency in ruminant cervical mucus. *Reprod Domest Anim* 43:393-399.
- Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley EM, Sanders ME, Shamir R, Swann JR, Szajewska H, Vinderola G. 2021. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18:649-667.
- Vishwanath R. 2003. Artificial insemination: the state of the art. *Theriogenology* 59:571-584.
- Zamojska D, Nowak A, Nowak I, Macierzyńska-Piotrowska E. 2021. Probiotics and postbiotics as substitutes of antibiotics in farm animals: a review. *Animals* 11:3431.

Efecto de la administración del flavonoide quercetina y de la línea genética sobre la gestión de reservas corporales, la eficiencia reproductiva y productiva en conejas durante la recría y al inicio de su vida útil

Effect of administration of the flavonoid quercetin and genetic line on body reserve management, reproductive efficiency and productive performance in does during rearing and at the beginning of their productive life

Jordán-Rodríguez D^{1*}, Vicente-Carrillo A², Fernández-González J², Pulido-Sánchez B³, Blanco-Argibay SM², Gimeno Martos S¹, Lorenzo-González P¹, García Rebollar P³, García-García RM¹, Arias-Álvarez M²

¹Dept. Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040, Madrid, España

²Dept. Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040, Madrid, España

³Dept. Producción Agraria, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, 28040, Madrid España

*djordan@ucm.es

Resumen

El uso de antioxidantes como la quercetina (QUR) y su combinación con líneas genéticas longevas puede ser de gran interés para optimizar la función reproductiva, la eficiencia productiva y prolongar la vida útil de las conejas reproductoras. Para valorar los efectos de este antioxidante y la genética, se realizó un estudio con conejas de la línea V, seleccionada por tamaño de camada al destete (grupo V), y de la línea LP, seleccionada por longevidad y producción (grupo LP), a las que se les suministró pienso suplementado con QUR (4 g/kg) (grupos V-Q y LP-Q) o pienso control sin suplementar (grupos V-C y LP-C) durante la recría (desde las 15 o 16 semanas en las conejas LP y V, respectivamente) y las dos primeras gestaciones siguiendo un ritmo semi-intensivo de producción. Se evaluaron el consumo de alimento, el peso durante todo el periodo experimental, la composición corporal (CC) en la primera inseminación artificial (IA) y la fertilidad y prolificidad en las dos primeras IAs. Los resultados mostraron que la administración de QUR desde la recría no influyó en el consumo de alimento, el peso o la CC de las conejas a la primera IA. Aunque las conejas LP iniciaron el estudio con peso inferior a las conejas V y tuvieron un período de recría más corto, lograron valores de CC similares a los de las conejas V. Asimismo, la fertilidad a la primera IA tendió a ser superior en las conejas LP-Q en comparación con las LP-C. Estos resultados sugieren que la suplementación de QUR no afecta la palatabilidad del pienso y no influye en los parámetros productivos y reproductivos analizados. Sin embargo, la línea genética LP podría presentar una gestión más eficiente de las reservas corporales al inicio de su vida útil independientemente de la suplementación con QUR.

Palabras clave: quercetina, línea genética, eficiencia reproductiva, composición corporal, conejas reproductoras.

Abstract:

The use of antioxidants such as quercetin (QUR) and its combination with long-lived genetic lines may be of great interest to optimise reproductive function, productive efficiency and prolong the lifespan of breeding rabbits. To assess the effects of this antioxidant and genetics, a study was conducted with rabbits does from the V line, selected for litter size at weaning (V group), and the LP line, selected for longevity and production (LP group), which were fed supplemented diet with QUR (4 g/kg) (V-Q and LP-Q groups) or non-supplemented control diet (V-C and LP-C groups) during rearing (from 15 or 16 weeks in LP and V rabbits, respectively) and the first two pregnancies following a semi-intensive production rhythm. Feed intake, body weight during the whole experimental period, body composition (BC) at the first artificial insemination (AI) and fertility and

proliferación at the first two AIs were evaluated. The results showed that administration of QUR from rearing did not influence feed intake, body weight or BC of the rabbits at first AI. Although LP does started the study at a lower body weight than V does and had a shorter rearing period, they achieved similar BC values to V rabbit does. Also, fertility at first AI tended to be higher in LP-Q does compared to LP-C does. These results suggest that QUR supplementation does not affect the palatability of the feed and does not influence the productive and reproductive parameters analysed. However, the LP genetic line could show a more efficient management of body reserves at the beginning of their lifespan regardless of QUR supplementation.

Keywords: quercetin, genetic line, reproductive efficiency, body composition, breeding does.

Introducción

En los sistemas de producción semi-intensivos se solapan los periodos de lactación y gestación, lo que provoca un marcado balance energético negativo (BEN). Esto provoca una movilización de reservas energéticas, afectando negativamente a los parámetros reproductivos y a la longevidad de las conejas (revisado por Lorenzo *et al.*, 2014) por el aumento del estrés oxidativo. Por eso, es interesante la suplementación de los piensos con antioxidantes como la quercetina (QUR), ya que es un flavonoide natural con varias funciones que produce efectos beneficiosos sobre la salud en general (Li *et al.*, 2016), incluida la reproducción. Estudios previos han demostrado que la administración oral durante al menos 20 días de QUR en conejas sometidas a estrés térmico favorece el desarrollo folicular y mantiene la competencia del oocito (Naseer *et al.*, 2017). Por todo lo anterior, el uso de la QUR podría ser útil para mitigar los efectos negativos de la aplicación de sistemas productivos semi-intensivos y mejorar así la eficiencia reproductiva de las hembras y la vida útil. Otra estrategia para incrementar la vida útil es mediante la selección genética de las reproductoras. Las hembras de líneas seleccionadas por longevidad y producción se caracterizan por una mejor gestión de las reservas corporales (Theilgaard *et al.*, 2007) en comparación con otras líneas seleccionadas por otros criterios como el número de gazapos destetados (Estany *et al.*, 1989) ampliamente distribuida en los núcleos de producción cunícola en España.

En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de una dieta comercial con QUR durante la recría y las dos primeras gestaciones en conejas reproductoras de dos líneas genéticas seleccionadas por longevidad productiva (línea LP) y número de destetados (línea V) sobre sus parámetros productivos (peso, consumo de alimento y composición corporal) y reproductivos (fertilidad y prolificidad). El estudio se llevó a cabo con un ritmo de reproducción semi-intensivo, en el que las hembras fueron inseminadas a los 11 días post parto (dpp) en su segunda IA.

Material y métodos

Se utilizaron conejas híbridas de Neozelandés blanco x Californiano de dos líneas genéticas seleccionadas en la Universidad Politécnica de Valencia (UPV): Línea V seleccionada por el número de gazapos destetados por parto y línea LP, seleccionada por su longevidad y vida productiva. Los animales se estabularon en jaulas individuales y con condiciones ambientales controladas (16h luz, 18-22°C y 60-75% humedad relativa) en la granja experimental del Departamento de Producción Agraria de la ETSIAAB (UPM). Los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de Experimentación Animal de la UPM y UCM (PROEX 324.6/23).

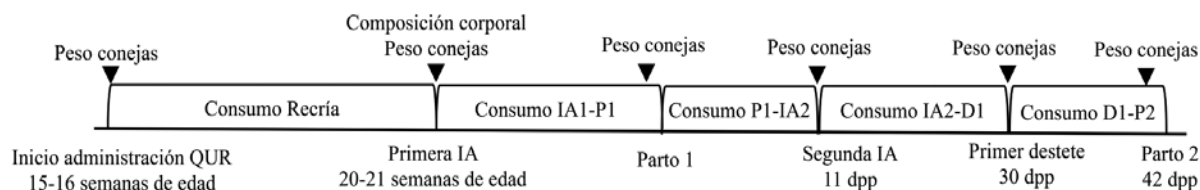
Las conejas de la línea LP (n=54, grupo LP) de 15 semanas de edad y las conejas de la línea V (n=57, grupo V) de 16 semanas de edad, se dividieron a su vez en dos grupos experimentales que recibieron pienso suplementado con QUR (4 g de QUR/kg de pienso, grupo Q) o pienso control (grupo C) *ad libitum* hasta el final de la prueba. Ambos piensos fueron fabricados a partir de la misma mezcla base de harina en la UPV y analizados en la UPM (composición: 19% proteína, 3,5% grasa, 43% FND, 17% FAD, 4% LAD y 4.380 cal/g, NANTA). Por tanto, los grupos experimentales que se establecieron fueron: V-C (n=28), V-Q (n=29), LP-C (n=27) y LP-Q (n=27).

El diseño experimental se muestra en la Fig. 1. El peso se determinó al inicio y final de la recría (día de la IA1, 20-21 semanas de edad), 3 días antes del primer parto (P1), a la segunda IA (IA2, 11 dpp), en el primer destete (D1, 30 dpp) y 3 días antes del segundo parto (P2). El consumo se determinó en el período comprendido entre el inicio de la recría con pienso experimental (semanas 15-16 de edad de las conejas) y la IA1, entre la IA1 y el P1, entre el P1 y la IA2, entre la IA2 y D1 y entre el D1 y P2. Las IAs se llevaron a cabo tras la administración de 20 µg de gonadorelina (Cystoreline, Ceva Salud Animal) con un pool de semen diluido (20 millones de espermatozoides en 0,5 ml). Las conejas primíparas lactantes se sincronizaron mediante la administración de 25 UI de Gonadotropina sérica equina (Serigan, Ovejero) 48h antes de la IA (11 dpp). La CC se estimó en el momento de la IA1 mediante

bioimpedancia eléctrica (Pereda *et al.*, 2007). Se calculó la tasa de fertilidad al parto [(N° conejas que paren/ N° conejas que se inseminan) x 100] y la prolificidad (nacidos totales, nacidos vivos y muertos) en las dos primeras IA.

Los efectos de la dieta y la genética sobre el consumo, el peso (con el peso inicial como covariable pues las conejas LP tenían una semana menos al inicio del período experimental) en cada momento del proceso productivo y la CC en la IA1 se llevó a cabo mediante un PROC GLM. Con el objetivo de evaluar el efecto de la dieta y la línea genética sobre la fertilidad y la prolificidad en las dos primeras IA se utilizó un PROC LOGISTIC y un PROC GLM, respectivamente. Las medias para cada combinación de grupo experimental (dieta y genética), tiempo y número de inseminaciones se compararon mediante estimaciones de medias de mínimos cuadrados, y los efectos se consideraron significativos cuando $p < 0,05$. (SAS 2002, versión 9.0, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Figura 1. Diseño experimental. IA1: primera inseminación artificial; P1: primer parto; IA2: segunda inseminación; D1: primer destete; P2: segundo parto. QUR: Quercetina; dpp: día post-parto.



Resultados y discusión

El consumo de alimento en las conejas fue similar entre los grupos tratados con y sin QUR y durante todos los periodos analizados (**Tabla 1**). La línea genética en conjunto con la administración del flavonoide no modificó este parámetro, sugiriendo que la suplementación de QUR no compromete la palatabilidad del pienso ni su aceptación por parte de los animales.

Tabla 1. Consumo y peso de conejas de dos líneas genéticas (V y LP) alimentadas con un pienso suplementado con quercetina (Q) y sin suplementar (C) desde el inicio de la recría hasta el segundo parto

	Grupos			
	V-C	V-Q	LP-C	LP-Q
Consumo (g/d)				
Recría	188,6±6,2	170,1±6,1	174,1±6,2	174,1±6,4
IA1-P1	169,1±18,9	169,3±13,6	158,9±7,4	179,2±10,0
P1-IA2	193,5±13,4	208,1±13,4	205,2±8,3	224,8±9,0
IA2-D1	276,1±24,5	274,2±24,9	307,3±15,2	272,6±21,0
D1-P2	232,5±39,5	297,6±40,4	235,9±28,2	210,1±40,6
Peso (g)				
Inicio recría	2951,7±7,7	2965,2±7,4	2948,5±7,6	2947,4±8,0
IA1	3724,4±44,0	3664,6±42,2	3800,6±43,5	3734,0±45,3
P1	4077,0±98,7	4042,3±98,5	4104,1±60,3	4041,2±67,9
IA2	3954,2±112,0	4058,0±111,8	4115,0±68,8	4075,4±76,8
D1	4137,5±138,6	4093,8±141,0	4048,7±85,9	4085,8±116,1
P2	4112,5±152,6	3941,5±158,5	4010,7±112,1	3969,4±154,8

V-C: conejas V alimentadas con pienso control; V-Q: conejas V alimentadas con pienso QUR; LP-C: conejas LP alimentadas con pienso control; LP-Q: conejas LP alimentadas con pienso QUR. Recría: intervalo entre el inicio de la administración del pienso experimental a la primera IA (desde las 15-16 semanas de edad hasta las 20-21 semanas de edad); IA1-P1: intervalo entre la primera IA y el primer parto; P1-IA2: intervalo entre el primer parto y la segunda IA; IA2-D1: intervalo entre la segunda IA y el primer destete a 30 dpp; D1-P2: intervalo entre el primer destete y el segundo parto; Inicio recría: 15-16 semanas de edad; IA1: peso el día de la IA1; P1: peso a día 28 de gestación del primer ciclo; IA2: peso el día de la IA2 a 11 dpp; D1: peso el día del D1; P2: peso a día 28 de gestación del segundo ciclo. Valores ajustados con el peso inicial de las conejas al inicio de la administración del pienso experimental. Se muestran medias ajustadas por mínimos cuadrados.

El peso al inicio de la recría, en ambas líneas genéticas fue significativamente diferente, así los grupos V-C ($3106,1 \pm 45,7$ g) y V-Q ($3069,0 \pm 56,4$ g) fueron mayores en comparación con los grupos LP-C ($2853,7 \pm 58,8$ g) y LP-Q ($2777,6 \pm 34,2$ g) ($p < 0.0001$). Esto es debido a la diferencia de edad de una semana entre ambos

grupos, aunque todas alcanzaron el peso mínimo necesario (al menos el 80% de su peso vivo adulto) en la IA1 que se realizó en el mismo momento en todas las hembras.

Para poder observar los efectos de la administración de QUR y de la línea genética durante los periodos estudiados, se utilizó como covariable el peso inicial y así los resultados no se vieran afectados por la edad de las conejas. Tras considerar esta covariable, se observó que la evolución del peso en todos los grupos fue similar a lo largo del experimento, sin observarse un efecto de la dieta ni de la línea genética (**Tabla 1**).

La CC de todas las conejas fue similar en el momento de la IA1 y similar a la descrita anteriormente (Taghouti *et al.*, 2021), sin observarse diferencias significativas entre grupos experimentales (**Tabla 2**), por lo que la administración del pienso suplementado con QUR no modificó las reservas corporales durante la recría. Aunque las conejas LP presentaron un menor peso al inicio del estudio, alcanzaron una CC similar a las conejas V en el momento de la IA1. Esto podría indicar una gestión más eficiente de las reservas corporales durante la recría en la línea LP. Este hallazgo concuerda con la mejor gestión de reservas corporales que se ha observado en esta línea (Theilgaard *et al.*, 2007).

Tabla 2. Composición corporal en la primera inseminación artificial de dos líneas genéticas (V y LP) alimentadas con un pienso suplementado con quercetina (Q) y sin suplementar (C) desde el inicio de la recría

	Grupos			
	V-C	V-Q	LP-C	LP-Q
Humedad (%)	52,39±0,74	52,48±0,74	52,51±0,74	52,53±0,74
Cenizas (%)	3,18±0,02	3,17±0,02	3,18±0,02	3,20±0,02
Proteína (%)	18,29±0,05	18,26±0,05	18,30±0,05	18,34±0,05
Grasa (%)	14,91±0,54	15,18±0,54	14,90±0,53	14,67±0,54
Energía kJ/100g	1126,5±22,27	1136,75±22,27	1125,93±22,27	1118,57±22,27

V-C: conejas V alimentadas con pienso control; V-Q: conejas V alimentadas con pienso QUR; LP-C: conejas LP alimentadas con pienso control; LP-Q: conejas LP alimentadas con pienso QUR.

La fertilidad en la IA1 de las conejas LP-Q fue similar que la de las conejas de la línea V suplementadas o no con QUR. Las conejas del grupo LP-C tuvieron una fertilidad significativamente más baja que la de las conejas de la línea V y tendieron a ser diferentes a las del grupo LP-Q (Tabla 3). Todas las conejas se inseminaron en única banda con la misma mezcla de semen y por la misma persona, por lo que esto no explicaría esta menor fertilidad en el grupo LP-C. Asimismo, los valores de CC fueron similares a las conejas V, por lo que la tendencia a tener menor fertilidad de las conejas LP-C no estaría explicada por la CC. Estos resultados en la fertilidad indican la necesidad de más estudios en marcadores de función ovárica o parámetros sanguíneos para entender el posible efecto de la QUR en los parámetros reproductivos. Finalmente, no se observaron diferencias significativas en el número de nacidos vivos (NV), muertos (NM) y totales (NT) entre los grupos experimentales durante las 2 primeras inseminaciones (**Tabla 3**). Por lo tanto, en este parámetro no se observó un efecto atribuible a la línea genética o a la suplementación con QUR.

Tabla 3. Fertilidad y prolificidad en las dos primeras inseminaciones de dos líneas genéticas (V y LP) alimentadas con un pienso suplementado con quercetina (Q) y sin suplementar (C) desde el inicio de la recría

	Grupos			
	V-C	V-Q	LP-C	LP-Q
Fertilidad (%)				
Nulíparas (IA1)	89,3 ^a	86,2 ^a	59,3 ^{b*}	81,5 ^{a*}
Primíparas (IA2)	38,5	47,4	52,4	58,3
Prolificidad				
Nulíparas (IA1)				
NV	9,5±0,5	10,1±0,3	8,9±0,6	8,8±0,7
NM	0,6±0,2	0,5±0,2	0,5±0,2	1,0±0,5
NT	10,1±0,4	10,6±0,3	9,4±0,5	9,8±0,5
Primíparas (IA2)				
NV	9,4±2,1	10,0±2,1	8,3±1	9,4±1,0
NM	2,6±1,4	2,3±1,7	0,8±0,7	2,1±0,9
NT	12,0±1,7	12,3±1,9	9,1±0,5	11,5±0,8

Resultados con letras diferentes muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) y * $p = 0,0797$. V-C: conejas V alimentadas con pienso control; V-Q: conejas V alimentadas con pienso QUR; LP-C: conejas LP alimentadas con pienso control; LP-Q: conejas LP alimentadas con pienso QUR. IA1: 1ª inseminación artificial; IA2: 2ª inseminación artificial. NV: nacidos vivos; NM: nacidos muertos; NT: nacidos totales.

Los resultados de este trabajo sugieren que la suplementación con QUR desde la recría no interfiere negativamente en el consumo de alimento ni en el crecimiento de las conejas reproductoras por lo que podría considerarse su inclusión en la dieta. La CC fue similar en las conejas LP, incluso cuando tuvieron un menor tiempo de recría, por lo que sugiere que su bagaje genético podría influir en la CC al inicio de la vida útil y en una gestión más eficiente de las reservas corporales. No obstante, solo las conejas de la línea LP-Q alcanzaron porcentajes de fertilidad comparables a los de la línea V en la primera inseminación artificial. Este hallazgo, evidencia la necesidad de estudios adicionales para dilucidar con mayor profundidad el efecto de la QUR a nivel ovárico y endocrino, así como su impacto a largo plazo en la vida productiva de las conejas.

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2022-138223OB-I00). Los autores expresan su agradecimiento a B. Velasco Muñoz y al equipo técnico de la Granja experimental de la UPM.

Bibliografía

- 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. *Livest Prod Sci* 21(1):67-75.
- Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, Liu H, Yin Y. 2016. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients* 8(3):167
- Lorenzo PL, García-García RM, Arias-Álvarez M, Rebollar PG. 2014. Reproductive and nutritional management on ovarian response and embryo quality on rabbit does. *Reprod Domest Anim* 49 Suppl 4:49-55
- Naseer Z, Ahmad E, Epikmen ET, Uçan U, Boyacıoğlu M, İpek, Akosy M. 2017. Quercetin supplemented diet improves follicular development, oocyte quality, and reduces ovarian apoptosis in rabbits during summer heat stress. *Theriogenology* 96:136-141
- Pereda N, Rebollar PG, Schwarz BF, Arias-Alvarez M, Revuelta L, Lorenzo PL, Nicodemus N. 2007. Estudio de la composición corporal de conejas reproductoras mediante la técnica de Impedancia Bioeléctrica (BIA). Parte II: Ecuaciones de Predicción. II Congreso Ibérico de Cunicultura. Vila Real, Portugal, pp 17-20.
- SAS Institute. 2002. SAS/STAT® User's Guide (v 9). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.
- Taghouti M, García J, Ibáñez MA, Macchiavelli RE, Nicodemus N. 2021. Relationship between Body Chemical Composition and Reproductive Traits in Rabbit Does. *Animals (Basel)* 11(8):2299
- Theilgaard P, Sánchez JP, Pascual JJ, Berg P, Friggens N, Baselga M. 2007. Late reproductive senescence in a rabbit line hyper selected for reproductive longevity, and its association with body reserves. *Genet Sel Evol* 39, 207-223

Efecto de la selección genética por eficiencia alimentaria en conejo de carne sobre la digestibilidad, el balance y la excreción de nitrógeno

Effect of genetic selection for feed efficiency in meat rabbits on digestibility, nitrogen balance and excretion

Cifuentes L^{1*}, Sánchez JP², Pascual M¹, Piles M¹, Orengo J³

¹Programa de Genética y Mejora Animal, IRTA, 08140, Caldes de Montbui, España

²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, Edif. C5, Campus de Rabanales, 14014 Córdoba, España

³Departamento de Producción Animal, Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria - Campus de Espinardo, 30100 Murcia, España.

*leticia.cifuentes@irta.cat

Resumen

Este estudio comparó las diferencias en digestibilidad, balance y retención de nitrógeno entre tres líneas seleccionadas por eficiencia alimentaria (ADGR, GRP y RFI) frente a una población control de embriones vitrificados. Se utilizaron 56 conejos, de dos lotes, controlados entre los 49 y 53 días de vida. Se realizó un análisis químico del pienso, heces y orina, evaluando la digestibilidad aparente de materia seca, materia orgánica, la energía y proteína bruta (DPB). Además, se calcularon el balance de nitrógeno (BN) y el índice de eficiencia del uso del nitrógeno (NUE). Las variables se analizaron con un modelo lineal, considerando los factores de línea, lote y el consumo diario como covariable. No se encontraron diferencias significativas con la población control en ninguno de los coeficientes de digestibilidad de las líneas seleccionadas. Sin embargo, cuando estas diferencias se calculaban a igualdad de consumo, se observaron diferencias significativas entre la línea GRP y la población control en DPB (-3,1%). El BN de la línea ADGR fue menor que el de la población control tanto a consumo constante (-0,39 g/d) como sin corregir (-0,44 g/d). La línea GRP también tuvo menor BN que la población control (-0,26 g/d), pero no a consumo constante. El BN de la línea RFI no fue diferente del de la población control. La línea GRP excretaba menos nitrógeno en heces que la población control (-0,13 g/d), mientras que la ADGR excretaba más nitrógeno en orina (0,32 g/d). A nivel total, sólo la línea GRP excretaba menos nitrógeno que la población control (-0,26 g/d). El índice NUE fue un 10% menor en la línea ADGR que en la otras. En conclusión, las líneas no mostraron diferencias en digestibilidad, pero se detectaron variaciones en el metabolismo del nitrógeno.

Palabras clave: digestibilidad, balance de nitrógeno, eficiencia alimentaria, selección.

Abstract

This study compared differences in digestibility coefficients and nitrogen retention among three lines selected for feed efficiency (ADGR, GRP, and RFI) against a control population derived from vitrified embryos. A total of 56 rabbits, selected from two batches and controlled between 49 and 53 days of age, were used. A chemical analysis of feed, faeces, and urine was conducted to assess dry matter digestibility, organic matter digestibility, energy digestibility, and crude protein digestibility (CPD) according to the European reference method. In addition, the nitrogen balance (NB), and nitrogen use efficiency index (NUE) were calculated. Statistical analysis of the variables was performed using a linear model, with line and batch as factors and daily intake as a covariate. No significant differences were found with the control population in any of the digestibility coefficients for the selected lines. However, when these differences were calculated at equal levels of intake, significant differences were observed between the GRP line and the control population in CPD (-3.1%). The NB for the ADGR line was lower than that of the control population both at constant intake (-0.39 g/d) and variable intake (-0.44 g/d). The GRP line also exhibited lower NB than the control (-0.26 g/d), but not at constant intake. The NB for the RFI line did not differ from the control population. The GRP line excreted less nitrogen in faeces compared to the control line (-0.13 g/d), while ADGR excreted more nitrogen in urine (0.32 g/d). Overall, only the GRP line excreted less nitrogen than the control (-0.26 g/d). The NUE index was 10% lower in the ADGR line compared to the others. In conclusion, while the lines did not show differences in digestibility, variations in nitrogen metabolism were detected.

Keywords: Digestibility, Nitrogen Balance, Feed Efficiency, Selection.

Introducción

El principal coste de producción en la actividad cunícola corresponde a la alimentación, que representa hasta un 78% de los costos variables (Serrano *et al.*, 2012). Dentro de las medidas para mitigar el impacto económico que supone este ítem, la selección genética se presenta como una de las soluciones para mejorar la eficiencia alimentaria y reducir el impacto ambiental en la producción animal.

La función digestiva desempeña un papel fundamental en la eficiencia alimentaria y se le ha atribuido un cierto determinismo genético (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). La acción de mejora sobre la eficiencia también se espera que tenga consecuencias positivas en la reducción de emisiones al medioambiente, en particular en lo que se refiere al nitrógeno (Steinfeld y Wassenaar, 2007). Se espera que la selección favorezca animales con una mayor capacidad de retener el nitrógeno ingerido, minimizando las excreciones al medio ambiente.

En los últimos siete años, en el IRTA (Caldes de Montbui, España), se ha trabajado en programas de selección para mejorar la eficiencia alimentaria mediante distintas estrategias de selección. Tras seis generaciones, se están evaluando las respuestas tanto en la eficiencia alimentaria como en otros caracteres relacionados que podrían haberse modificado durante el proceso de selección. Para ello, se comparan las líneas con una cuarta población creada en 2022 a partir de los embriones criopreservados de la población original, antes del comienzo de los procesos de selección. Este diseño experimental nos permite una estimación precisa de la respuesta a la selección.

Material y métodos

El diseño experimental supuso la comparación de tres líneas de selección que comparten el mismo origen genético, la línea Caldes (Gómez *et al.*, 2002). Estas líneas se evaluaron frente a un grupo control (X), formado en 2022 a partir de embriones vitrificados de la misma línea (Sánchez *et al.*, 2019). Los criterios de selección aplicados fueron: crecimiento medio diario en condiciones de restricción (línea ADGR), consumo de pienso residual medido por individuo (línea RFI), y consumo de pienso residual promedio por jaula (línea GRP).

Tras el destete a los 35 días de vida, los gazapos de dos lotes se sexaron y pesaron a los 42 días para escoger aquellos con un peso inicial homogéneo. Luego, se alojaron en jaulas individuales adaptadas para la recolección de heces y orina. Tras un periodo de adaptación de 7 días se desarrolló la prueba entre los 49 y 53 días de vida, según el método de referencia europeo para la determinación de la digestibilidad *in vivo* (Pérez *et al.*, 1995). Se utilizaron 7 conejos por línea y lote (28 animales por lote, 14 por tipo genético). En la **Tabla 1** se presentan los valores promedio del peso al comenzar la prueba por línea. Los animales fueron alimentados con el mismo pienso durante todo el periodo de engorde.

Tabla 1. Peso inicial (g) de las diferentes líneas; n=7 conejos por línea y lote

	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo
ADGR	1.773	117,0	1.627	1.980
GRP	1.719	74,8	1.540	1.835
RFI	1.781	66,6	1.690	1.914
X	1.745	71,7	1.595	1.845

X: grupo control

Se realizó el control del consumo de pienso y peso vivo al inicio y final de la prueba, y se recogieron heces y orina desde el segundo al cuarto día del estudio de digestibilidad. Las muestras fecales fueron pesadas y congeladas (-18°C) tras su recolección individual en la mañana. La orina individual se recogió de forma diaria y se mantuvo refrigerada. Para evitar la evaporación del amoníaco, se añadieron 30 mL de ácido sulfúrico al 10%. Al finalizar la prueba, todas las muestras diarias de orina se mezclaron y, tras pesar y medir el volumen, se tomó una alícuota de 55 mL que se congeló a -18°C. El análisis químico proximal y calorimétrico del pienso, heces y orina se realizó según técnicas establecidas por la AOAC (2023), permitiendo el cálculo de digestibilidad por el método directo (Villamide *et al.*, 2010). Se estimaron los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca (DMS) y materia orgánica (DMO), y digestibilidad de la energía (DE) y proteína bruta (DPB), expresados en porcentaje. Se calculó el balance de nitrógeno (BN=nitrógeno ingerido - y nitrógeno excretado en heces y orina; g/d), el índice de eficiencia de uso del nitrógeno (NUE= BN/ nitrógeno ingerido).

Se estudiaron diferentes caracteres de la excreción absoluta del nitrógeno (g/d) en heces y orina, y su suma como el total. Para el análisis estadístico, se empleó un modelo lineal fijo que consideraba los efectos de lote y línea para todos los caracteres, además de considerar el consumo diario como covariable. La implementación de este modelo se hizo usando la función `lm()` de R (R Core Team, 2024). Los resultados obtenidos se procesaron para calcular las diferencias entre las medias mínimos cuadráticas (LSM) de una de las líneas seleccionadas y las de la población control. El cálculo de estos contrastes se realizó de dos formas diferentes, respetando las diferencias de consumo que cada línea pudiera tener o igualando el consumo de todas las poblaciones. La significación estadística de estos contrastes se evaluó con el estadístico F.

Resultados y discusión

Durante la prueba, los animales se mantuvieron sanos y con un consumo de alimento normal. Sin embargo, cuatro muestras de orina no fueron consideradas por volumen insuficiente para el análisis o por exceso de dilución por goteo del bebedero. Por otra parte, dos muestras fueron excluidas del análisis de digestibilidad debido a consumos muy por debajo del promedio.

Ninguno de los coeficientes de digestibilidad de las líneas seleccionadas fue estadísticamente diferentes al de la población control (**Tabla 2**; $p > 0,05$). Esto puede evidenciar que la selección no parece haber inducido ninguna respuesta en la función digestiva de los animales. Resultados similares se obtuvieron en un estudio de selección en cerdos por consumo residual, en el cual los coeficientes de digestibilidad tampoco se vieron afectados por el proceso de selección (Barea *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha de resaltar que el consumo diario de pienso en las líneas ADGR y RFI fue similar al de la línea X, pero la línea GRP mostró un consumo claramente menor que el de la línea X (p valor $< 0,001$), siendo las medias por línea para este carácter: $155 \pm 3,7$, $155 \pm 3,7$, $138 \pm 3,8$, $161 \pm 3,8$ g/d para para ADGR, RFI, GRP y X, respectivamente. Cuando las diferencias para los coeficientes de digestibilidad se calcularon a igualdad de consumo, el contraste para DPB entre la línea GRP y la línea X resultó significativo ($-3,1 \pm 1,12\%$; p valor $< 0,01$). Para el balance nitrogenado sí se observaron diferencias significativas entre las líneas seleccionadas y la población control (**Tabla 2**). Para la línea ADGR, se observaron diferencias tanto si el contraste se realizaba con los niveles de consumo propios de la línea ($-0,435 \pm 0,0982$ g/d) como si se corregía a un consumo constante en todas las líneas ($-0,39 \pm 0,1$ g/d; resultados no mostrados). En la línea GRP, sólo resultó significativo el contraste realizado respetando el consumo propio de las líneas ($-0,262 \pm 0,0981$ g/d; p valor $< 0,01$) (**Tabla 2**). Para la línea RFI, no se observaron diferencias significativas ni a consumo constante, ni tampoco respetando las diferencias de consumo de cada línea. En general, estos resultados pueden calificarse de no esperados dado que supondrían un uso menos eficiente del nitrógeno en dos de las tres líneas seleccionadas, aunque estas diferencias de uso del nitrógeno pueden parcialmente quedar explicadas por el diferente consumo de las líneas.

Tabla 2. Diferencias en los coeficientes de digestibilidad y balance de nitrógeno por línea genética respecto a la línea control

	DMS (%)		DMO (%)		DE (%)		DPB (%)		BN (g/d)	
	Estima	p valor	Estima	p valor	Estima	p valor	Estima	p valor	Estima	p valor
ADGR	-0,1 (0,97)	NS	<0,1 (0,97)	NS	-0,2 (1,08)	NS	0,6 (0,94)	NS	-0,44 (0,098)	<0,001
GRP	-0,4 (0,97)	NS	-0,5 (0,96)	NS	-0,9 (1,08)	NS	-0,4 (0,94)	NS	-0,26 (0,098)	<0,01
RFI	-0,4 (0,95)	NS	-0,4 (0,95)	NS	-0,5 (1,06)	NS	0,5 (0,92)	NS	-0,04 (0,098)	NS

DMS: Digestibilidad de materia seca; DMO: digestibilidad de materia orgánica; DE: digestibilidad energética; DPB: digestibilidad de proteína bruta; BN: balance de nitrógeno; NS: No significativo.

La **Tabla 3** muestra las diferencias en nitrógeno excretado de las líneas con respecto a la línea X. Estas diferencias se podrían interpretar como la huella de nitrógeno de las líneas. La línea GRP excretaba menos nitrógeno en heces que la línea control ($-0,13$ g/d; p valor $< 0,001$). La línea ADGR presentó una excreción de nitrógeno en orina mayor que el de la población control ($0,32$ g/d; p valor $< 0,01$). Con respecto a la excreción total de nitrógeno sólo alcanza significación estadística el contraste para la línea GRP, que al igual que para la excreción en heces tiene una menor magnitud que el de la línea X ($-0,26$ g/d; p valor $< 0,05$).

Tabla 3. Diferencias en excreción de nitrógeno (N) por línea genética respecto del grupo control respetando los consumos propios de cada línea.

	N excretado en heces (g/d)		N excretado en orina (g/d)		N total excretado (g/d)	
	Estima	p valor	Estima	p valor	Estima	p valor
ADGR	-0,03 (0,036)	NS	0,32 (0,100)	<0,01	0,22 (0,117)	NS
GRP	-0,13 (0,036)	<0,001	-0,13 (0,100)	NS	-0,26 (0,119)	<0,05
RFI	-0,05 (0,034)	NS	-0,04 (0,100)	NS	-0,16 (0,117)	NS

N: nitrógeno. NS: no significativo

Tabla 4. Diferencias en excreción de nitrógeno (N) por línea genética respecto del grupo control a igualdad de consumo entre las líneas.

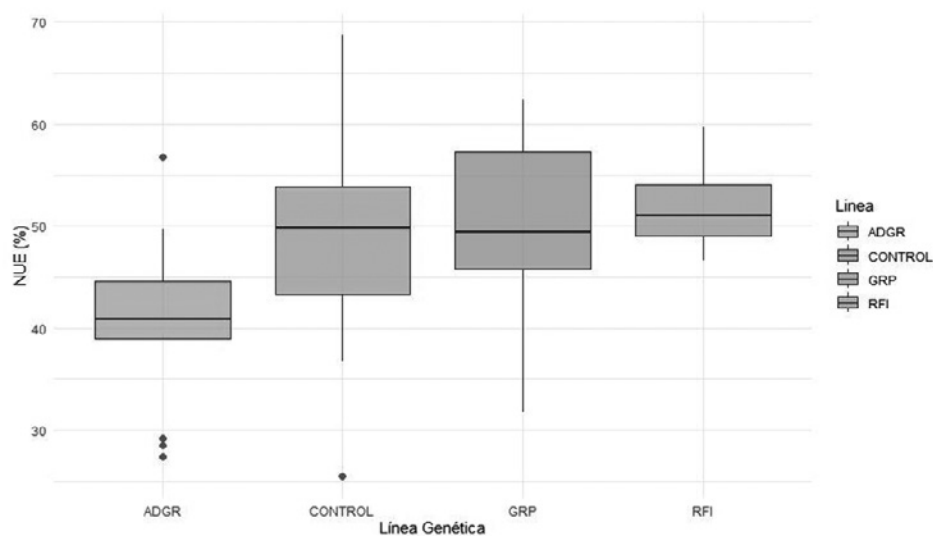
	N excretado en heces (g/d)		N excretado en orina (g/d)		N total excretado (g/d)	
	Estima	p valor	Estima	p valor	Estima	p valor
ADGR	0,04 (0,036)	NS	0,35 (0,101)	<0,01	0,32 (0,119)	<0,01
GRP	0,13 (0,042)	<0,01	-0,03 (0,118)	NS	0,09 (0,140)	NS
RFI	0,01 (0,036)	NS	-0,01 (0,102)	NS	-0,07 (0,118)	NS

N: nitrógeno. NS: no significativo

El ajuste por nivel de consumo (**Tabla 4**) no tuvo prácticamente consecuencias en los contrastes sobre la cantidad de nitrógeno excretado en orina, pero sí sobre la cantidad de nitrógeno excretado en heces. Es particularmente llamativo que, a igualdad de consumo, la respuesta en excreción de nitrógeno en heces para la línea GRP pasó a ser significativamente positiva (0,13 g/d; p valor < 0,01). Nótese el claro menor consumo de esta línea, y que el coeficiente de regresión del consumo sobre el nitrógeno excretado es positivo (0,011 ± 0,0010 g/d). La corrección por consumo para el total de nitrógeno excretado supuso la pérdida de significación estadística para el caso de la línea GRP, y la magnificación de la respuesta desfavorable para el caso de la línea ADGR cuya diferencia con la población control fue de 0,32 g/d (p valor < 0,01). Para todos los caracteres estudiados, excepto para el nitrógeno excretado en orina, la regresión sobre el consumo resultó un factor significativo. La línea ADGR se seleccionó para incrementar el crecimiento en condiciones de restricción alimentaria. En esta población no parece clara la respuesta en crecimiento que inicialmente se pretendía (Sánchez *et al.*, 2024) pero parece haberse modificado la actividad metabólica, aunque en sentido no deseado: retiene menos nitrógeno y excreta más nitrógeno en orina.

Los resultados para el índice de eficiencia en el uso de nitrógeno (NUE) se presentan de manera gráfica en la **Figura 1**. Las diferencias que en ella se pueden ver, mostraron una reducción de este índice en la línea ADGR de casi el 10% respecto a las otras tres poblaciones; en concreto, respecto a la población control de $-9,84 \pm 2,84$ % (p valor < 0,01).

Figura 1. Eficiencia del uso de nitrógeno (NUE) por línea genética.



En conclusión, no parece que las líneas hayan respondido a la selección en los caracteres de digestibilidad, aunque sí parece haber habido respuesta en lo relativo a la digestión y metabolismo del nitrógeno. Estas diferencias respecto a la población control pueden parcialmente explicarse por la respuesta a la selección en el consumo. Estos resultados coinciden con estudios previos que muestran que la respuesta directa en eficiencia varía según las líneas y las condiciones de alimentación, siendo en algunos casos favorables y en otros desfavorables. En cualquier caso, se trata de una respuesta en el sentido contrario al deseado, pues supone, en general, un deterioro de la capacidad de retención de nitrógeno y un aumento de los niveles de excreción de nitrógeno.

Agradecimientos: Financiado por el proyecto PID2021-128173OR-C21. Personal técnico de granja Torre Marimon: Oscar Perucho, Pere Alsina y Queralt Estruch. Beneficiario de la beca PREDOC2022 FPI.

Bibliografía

- AOAC. 2023. *Official methods of analysis of AOAC International* (22nd ed.). AOAC International.
- Barea R, Dubois S, Gilbert H, Sellier P, Van Milgen J, Noblet J. 2010. Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *J. Anim Sci*, 88(6): 2062-72.
- Gidenne T, Fortun-Lamothe L, Bannelier C, Molette C, Gilbert H, Chemit ML, Segura M, Benitez F, Richard F, Garreau H, Drouilhet L. 2017. Direct and correlated responses to selection in two lines of rabbits selected for feed efficiency under ad libitum and restricted feeding: III. Digestion and excretion of nitrogen and minerals. *J. Anim Sci*, 95(3): 1301-1312.
- Gómez E A, Rafel O, Ramon J. 2002. The Caldes strain (Spain). *Options méditerranéennes: Sér B. Etudes Rech*, 38: 193-198.
- Mignon-Grasteau, S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Péron A, Sellier N, Millet N, Besnard J, Hallouis J M, Carré B. 2004. Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poult Sci*, 83(6): 860-867.
- Pérez JM, Lebas F, Gidenne T, Maertens L, Xiccato G, Parigi-Bini R, Zotte AD, Cossu ME, Carazzolo A, Villamide MJ, Carabaño R, Fraga MJ, Ramos MA, Cervera C, Blas E, Fernández J, Falcao E, Cunha L, Bengala Freire J. 1995. European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits. *World Rabbit Sci*, 3(1): 41-43.
- R Core Team. 2024. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Sánchez JP, Pascual M, Perucho O, Piles M. 2019. Selección para mejorar la eficiencia alimentaria de gazapos alojados en grupo usando comederos electrónicos. En: *XLIV Symposium de Cunicultura de ASESCU*. Aranda de Duero, Spain, pp. 93-98.
- Sanchez JP, Pascual M, Orengo J, López-Bejar M, Piles M. 2024. Preliminary estimates of the response to selection for feed efficiency in three lines of meat rabbits. En: *13th World Rabbit Congress*, Tarragona, Spain, pp. 150-153.
- Serrano P, Pascual M, Gómez, EA. 2012. Estimación de costes de producción de la carne de conejo. *Bol. Cunicult* 168: 44-53.
- Steinfeld H, Wassenaar T. 2007. The Role of Livestock Production in Carbon and Nitrogen Cycles. *Annu. Rev. Environ. Resour*, 32: 271-294.
- Villamide MJ, Maertens L, De Blas C. 2010. Feed evaluation. En De Blas C, Wiseman J (Ed.). *The nutrition of the rabbit*. CABI Publishing, Melle, Belgium, pp. 151- 155.

NUTRICIÓN

Alimentación diferenciada en gazapos lactantes: niveles de energía y proteína del pienso

Ramón-Moragues A, Cambra-López M, Martínez-Paredes E, Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Pascual JJ, Marín-García PJ

Efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el crecimiento, la mucosa intestinal y la microbiota cecal en conejos

Ramón-Moragues A, Marín García PJ, Martínez Paredes E, Franch-Dasí J, Ródenas L, López MC, Larsen T, Pascual JJ, Cambra López M

Optimización del perfil proteico ideal mediante metabolómica no dirigida en conejos

Marín-García PJ, Llobat L, Cortés-García C, Cambra-López M, Blas E, Torben L, Pascual JJ, Skou-Hedemann M

Influencia del nivel de fibra insoluble sobre la digestibilidad y el flujo ileal de la materia seca, proteína, almidón y fibra dietética en gazapos tras el destete

Romero C, Farias-Kovac C, Nicodemus N, García J

Alimentación diferenciada en gazapos lactantes: niveles de energía y proteína del pienso

Differential feeding in lactating kits: energy and protein levels of feed

Ramón-Moragues A^{*1}, Cambra-López M¹, Martínez-Paredes E¹, Franch-Dasí J^{1,2}, Ródenas L¹, López MC¹, Pascual JJ¹, Marín-García PJ²

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de Valencia, 46022, Valencia, España.

²Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera CEU, 46115 Valencia, España.

*adramo@upv.es

Resumen

El objetivo fue formular y evaluar dietas específicas para gazapos lactantes con distintos niveles de energía digestible (ED) y proteína digestible (PD). Con ello, se persigue promover el consumo temprano de alimento y mejorar la salud y productividad. Se formularon cuatro dietas combinando dos niveles de ED (baja, LE y alta, HE) y PD (baja, LP y alta, HP). Éstas se compararon con un pienso control para conejas reproductoras (C). En total, hubo cinco tratamientos experimentales (C, LELP, HELP, LEHP y HEHP). Se utilizaron 120 camadas de 60 conejas en dos tandas, estandarizando a 10 gazapos por camada y reponiendo bajas los primeros 15 días. Se administraron las dietas experimentales desde el día 15 al 38. Se destetaron a 31 días, permaneciendo en el alojamiento de maternidad, hasta que se trasladaron a jaulas de cebo a los 39 días (8 conejos/jaula). A partir de aquí hasta los 63 días de vida, fueron alimentados con un pienso de cebo comercial. Durante el periodo experimental, se evaluó el peso vivo, la ganancia media diaria, el consumo de alimento y el índice de conversión en distintos periodos, así como la mortalidad. Los resultados mostraron que la dieta HEHP mejoró los rendimientos productivos entre los 15 y 38 días. Su efecto desapareció al homogeneizar a partir de la fase de cebo. Aunque las dietas con mayor PD (HP) mejoraron el crecimiento, también aumentaron la mortalidad en el mismo periodo. Pese a que la mortalidad fue baja de manera general, es necesaria más investigación para reducir la mortalidad asociada a altos niveles de PD, explorando el uso de fuentes proteicas con mayor digestibilidad.

Palabras clave: conejos lactantes, proteína digestible, energía digestible, rendimientos productivos, dietas personalizadas.

Abstract

The objective was to formulate and evaluate specific diets for lactating kits with different levels of digestible energy (DE) and digestible protein (DP). The aim was to promote early feed intake and improve health and productivity. Four diets were formulated combining two levels of DE (low, LE and high, HE) and DP (low, LP and high, HP). These were compared with a control feed for breeding rabbits (C). In total, there were five experimental treatments (C, LELP, HELP, LEHP and HEHP). A total of 120 litters of 60 rabbit does were used in two batches, standardising to 10 rabbits per litter and replenishing casualties in the first 15 days. The experimental diets were administered from day 15 to 38. They were weaned at 31 days, remaining in maternity housing, until they were moved to fattening cages at 39 days (8 rabbits/cage). From this point until 63 days of age, they were fed a commercial feed. During the experimental period, live weight, average daily gain, feed intake and feed conversion ratio were evaluated at different periods, as well as mortality. The results showed that the HEHP diet improved productive performances between 15 and 38 days. Its effect disappeared when homogenised from the fattening phase onwards. Although higher PD (HP) diets improved growth, they also increased mortality in the same period. Although mortality was low overall, more research is needed to reduce mortality associated with high PD levels by exploring the use of protein sources with higher digestibility.

Keywords: suckling rabbits, digestible protein, digestible energy, productive performances, tailor diets.

Introducción

Hasta el destete, la única fuente de alimento sólido para los gazapos es el pienso de la madre. Sin embargo, las necesidades nutricionales de los gazapos difieren considerablemente de las de la hembra lactante. Los conejos son de las pocas especies de producción donde no hay implementado un sistema de alimentación diferenciada que permita administrar un pienso específico para cada grupo de animales (gazapos jóvenes vs. hembras adultas); y que esté perfectamente adaptado a las necesidades nutricionales y fisiología digestiva de cada tipo de animal. Este pienso debe estar formulado específicamente para animales jóvenes, ya que su sistema digestivo es inmaduro es muy susceptible a trastornos digestivos, en parte asociado al contenido en proteína y almidón de los piensos (Carabaño *et al.*, 2008).

Por ello, aunque el destete y cambio de alimentación es un momento crítico, también es una oportunidad para mejorar la salud, el desarrollo gastrointestinal y la implantación de la microbiota cecal, mejorando la producción y reduciendo la mortalidad (Paës *et al.*, 2019). Esto pudiera estar asociado más al consumo temprano de alimento sólido que a la edad (Paës *et al.*, 2019). No obstante, la información disponible sobre piensos específicos dirigidos a fomentar el consumo temprano de pienso y a cubrir las necesidades nutricionales de los gazapos es escasa. Por ello, el objetivo del presente trabajo es formular y evaluar dietas específicas para gazapos lactantes a nivel de energía digestible (ED) y proteína digestible (PD), que ayude a incentivar el consumo temprano de alimento sólido y mejore la salud y productividad.

Material y métodos

El ensayo se llevó a cabo en la granja experimental de la Universitat Politècnica de València (UPV) y fue autorizado con el código 2024 VSC PEA 0100.

Se elaboraron cuatro piensos para gazapos lactantes en función de la combinación de dos niveles de ED y dos niveles de PD. Se formularon cuatro dietas combinando dos niveles de ED (baja, LE y alta, HE) y PD (baja, LP y alta, HP). Éstas se compararon con un pienso control para conejas reproductoras (C). En total, hubo cinco tratamientos experimentales (C, LELP, HELP, LEHP y HEHP). Los niveles low, L y high, H de ED y PD se alcanzaron modificando las concentraciones de almidón purificado, aceite de soja, harina de soja al 67% y concentrado proteico de soja, respectivamente. Los niveles de ED y PD en materia seca (MS) teóricos utilizados fueron: 11,15 MJ/kg (LELP); 12,29 MJ/kg (HELP); 11,36 MJ/kg (LEHP); 12,47 MJ/kg (HEHP). Los niveles de PD en materia seca teóricos utilizados fueron: 120 g/kg (LELP y HELP) y 143 g/kg (LEHP y HEHP). Los niveles del grupo C fueron 10,6 MJ/kg MS de ED y 134 g/kg MS de PD. La composición nutricional analizada de los piensos experimentales se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Composición nutricional de los piensos experimentales.

	C	LELP	HELP	LEHP	HEHP
MATERIA SECA	90,7	90,1	91,1	90,3	91,2
CENIZAS	8,97	7,75	7,79	8,00	7,73
PROTEÍNA BRUTA	18,3	17,1	17,5	18,6	18,3
EXTRACTO ETÉREO	3,63	3,12	9,70	2,78	8,60
ALMIDÓN	19,6	21,6	15,1	21,5	16,0
FIBRA NEUTRO DETERGENTE	34,9	31,0	29,3	29,8	30,2
FIBRA ÁCIDO DETERGENTE	18,0	15,4	14,5	14,9	14,8
LIGNINA ÁCIDO DETERGENTE	3,35	1,67	1,52	1,72	1,75

Tratamientos: C (control), LELP (bajo nivel de energía y proteína), HELP (alto nivel de energía y bajo de proteína), LEHP (bajo nivel de energía y alto de proteína), HEHP (alto nivel de energía y proteína).

Se utilizaron 120 camadas, procedentes de 60 conejas de segundo y tercer parto durante dos tandas seguidas. Los animales utilizados fueron de la línea genética LP de la UPV. Tras el parto, las camadas se estandarizaron a 10 gazapos, se pesaron, y permanecieron junto a su madre hasta los 15 días de vida. En caso de baja durante los primeros 15 días de vida, los gazapos eran repuestos por animales de peso similar. Se administraron las dietas experimentales desde el día 15 al 38. A los 15 días postparto, las conejas se alojaron en la jaula contigua para controlar la ingestión, y medir la producción de leche de la coneja para corregir el consumo de pienso de los gazapos. Los animales se destetaron a 31 días, permaneciendo en el alojamiento de maternidad, hasta que se trasladaron a jaulas de cebo a los 39 días. En las jaulas de cebo (50 x 80 x 32 cm)

se alimentaron con un pienso comercial y se estandarizaron a 8 animales. La fase de engorde duró desde los 38 hasta los 63 días de vida.

A los 24, 31, 38, 45 y 63 días de vida los animales se pesaron por camadas, y se midió el consumo de pienso. Con ello se determinó la ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario de pienso (CMD) y el índice de conversión alimenticia (IC) por gazapo y periodo. La mortalidad se registró diariamente por tratamiento, y se calculó de 15 a 38 y de 39 a 63 días de vida.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un modelo lineal general de SAS System Software® SAS 9.3. teniendo en cuenta en el modelo las medidas repetidas. La significación se estableció en $P < 0,05$.

Resultados y discusión

La **Tabla 2** muestra los rendimientos productivos en función del tratamiento por periodos, así como el efecto de los niveles de ED y PD y su interacción. Al inicio (15 días de vida), el peso vivo medio por gazapo fue de 250 g. Durante el primer periodo (de 15 a 24 días) se observó un CMD y una GMD significativamente mayor por parte de los piensos con mayor ED. Esto puede deberse a las características físicas del pienso, ya que el aumento de energía dio como resultado piensos más blandos y probablemente más apetecibles para los gazapos (Gidenne *et al.*, 2003). A diferencia de lo que ocurre en conejos adultos (Gidenne *et al.*, 2010), a esta edad, los gazapos no regulan el consumo en función de la ED.

Tabla 2. Efecto de los piensos experimentales sobre el peso vivo (PV; g), consumo medio diario (CMD; g MS/día), ganancia media diaria (GMD; g/día), e índice de conversión (IC) en gazapos lactantes.

	PIENSO EXPERIMENTAL					SEM	P-valor	CONTRASTES		
	C	LELP	HELP	LEHP	HEHP			LE-HE	LP-HP	E-P
n	24	24	24	24	24			48	48	
15-24 días (d)										
PV 15 d	249,1	252,3	249,3	251,0	250,7	1,22	0,322	1,70	-0,07	ns
CMD	2,22 ^{bc}	1,99 ^{ab}	2,24 ^{bc}	1,89 ^a	2,42 ^c	0,2	0,010	-0,39 ^{**}	-0,04	ns
GMD	9,53 ^{ab}	9,78 ^{ab}	10,27 ^{bc}	9,25 ^a	11,02 ^c	0,58	0,001	-1,13 ^{**}	-0,11	*
24-31 d										
PV 24 d	351,7 ^a	359,2 ^{ab}	359,3 ^{ab}	354,2 ^a	368,5 ^b	3,97	0,036	-7,17	-2,10	ns
CMD	25,80 ^{ab}	23,80 ^a	26,00 ^{ab}	25,05 ^a	28,19 ^b	0,91	0,016	-2,67 ^{**}	-1,72	ns
GMD	36,73 ^a	38,16 ^{ab}	38,77 ^{ab}	40,00 ^{bc}	41,22 ^c	0,76	0,001	-0,92	-2,15 ^{**}	ns
31-38 d										
PV 31 d	611,6 ^a	628,8 ^{ab}	631,4 ^{ab}	636,9 ^{bc}	657,8 ^c	8,7	0,007	-11,7	-17,3 [*]	ns
CMD	69,40 ^b	62,82 ^a	60,37 ^a	64,05 ^a	63,06 ^a	1,5	0,001	1,72	-1,96	ns
GMD	48,30 ^{abc}	46,64 ^{ab}	46,45 ^a	49,68 ^c	49,01 ^{bc}	1,02	0,026	0,44	-2,80 ^{**}	ns
IC	1,51 ^c	11,43 ^b	1,37 ^a	1,35 ^a	1,35 ^a	0,01	0,000	0,03	0,054 ^{**}	ns
PV 38 d	933,4 ^a	939,3 ^a	940,3 ^a	968,5 ^{ab}	984,6 ^b	12,6	0,015	-8,55	-36,8 ^{**}	ns

n: número de camadas por tratamiento (10 gazapos por camada). Periodos: de 15 a 24 días; de 24 a 31 días, y de 31 a 38 días de vida.

Tratamientos: C (control), LELP (bajo nivel de energía y proteína), HELP (alto nivel de energía y bajo de proteína), LEHP (bajo nivel de energía y alto de proteína), HEHP (alto nivel de energía y proteína). Letras diferentes en la misma línea significan diferencias individuales. SEM: error estándar de la media. LE-HE: contraste (del inglés, *low energy* y *high energy*). LP-HP: contraste (del inglés, *low protein* y *high protein*). E-P: (energía x proteína); * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; ns: no significativo.

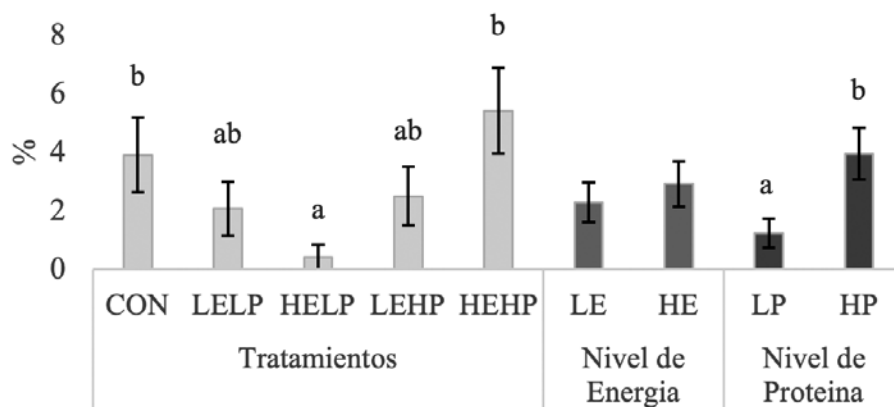
A los 24 días de vida todos los tratamientos obtuvieron pesos más elevados que el grupo C, destacando el tratamiento HEHP (+16,8±3,97 g, respecto a C). Durante el segundo periodo (de 24 a 31 días) no se observan diferencias significativas en el consumo respecto al grupo C. Respecto a los niveles de ED y PD, nuevamente, se observó un CMD significativamente mayor por parte de los piensos con mayor ED. Sin embargo, en la GMD, el nivel de PD tuvo un mayor efecto que el nivel de ED, favoreciendo el crecimiento en los tratamientos con mayor nivel de PD (LEHP y HEHP; $P = 0,0048$), y alcanzando pesos más elevados a los 31 días de vida (636,9±8,7 g y 657,8±8,7 g; respectivamente).

Tras el destete (de 31 a 38 días de vida), el nivel de PD mejoró el crecimiento (peso y GMD) sin aumentar de manera significativa el CMD. Por otro lado, se observó un efecto compensatorio en el CMD por parte del tratamiento C. Las combinaciones de ED y PD mostraron un mejor IC respecto al tratamiento C; concretamente los tratamientos con mayores niveles de PD. A los 38 días de vida, los gazapos de los tratamientos con mayor cantidad de PD mostraron los pesos más elevados ($P=0,0012$).

Con el paso a la fase de engorde y el cambio a un pienso único entre tratamientos, las diferencias alcanzadas durante los primeros 38 días de vida (**Tabla 2**) se diluyeron. Los animales como media alcanzaron un peso vivo final de 1871 g, no observándose diferencias entre tratamientos –datos no mostrados. No se observaron diferencias en la GMD, CMD e IC durante la fase de cebo entre tratamientos experimentales ni entre niveles de ED y PD. En conejos es frecuente que, una vez los animales pasan a recibir un mismo pienso, las diferencias iniciales de desarrollo desaparezcan como consecuencia de un crecimiento compensatorio. Por ejemplo, con el racionamiento del alimento tras el destete, los conejos muestran un buen crecimiento compensatorio durante el siguiente período de engorde, correlacionado con una buena eficiencia alimentaria global (Xiccato, 1999).

Respecto a la mortalidad, la **Figura 1** muestra la mortalidad acumulada durante los periodos de 15 a 38 días de vida en función de los tratamientos, y los niveles de ED y PD. A los 38 días, los tratamientos C y HEHP presentaron las mayores mortalidades (de 4 al 6%), significativamente superiores al HELP que mostró la mortalidad más baja, 0,42%. En referencia a los niveles de ED y PD, no se observaron diferencias significativas para los niveles de ED, pero sí para los de PD. Los tratamientos con menor cantidad de PD mostraron una menor mortalidad en comparación con los de alta PD, tal y como se describe en Carabaño *et al.* (2008).

Figura 1. Mortalidad (%) por tratamiento (n:120) y niveles de energía y proteína digestible (n:240) de 15 a 38 días de vida. Tratamientos: C (control), LELP (bajo nivel de energía y proteína), HELP (alto nivel de energía y bajo de proteína), LEHP (bajo nivel de energía y alto de proteína), HEHP (alto nivel de energía y proteína). LE-HE: del inglés, low energy y high energy. LP-HP: del inglés, low protein y high protein.



En el caso del periodo de cebo, no se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre tratamientos (promedio igual a 5,5%), ni entre los niveles de ED (LE: 5,47%; HE: 5,21%) y PD (LP: 6,51%; HP: 4,17%).

En conclusión, el uso de dietas específicas para gazapos lactantes mejora los rendimientos productivos en comparación al pienso normalmente utilizado para las conejas. Un nivel de ED mayor tiene un efecto beneficioso sobre el consumo de pienso a edades tempranas (de 15 a 24 días), mientras que, a partir de los 24 días de vida, un mayor nivel de PD favorece la GMD, el PV y el IC. Sin embargo, durante el cebo con un pienso comercial único, los beneficios de los piensos específicos tienden a diluirse debido al crecimiento compensatorio. Finalmente, pese a que la mortalidad fue baja de manera general, es necesaria más investigación para reducir la mortalidad asociada a altos niveles de PD, explorando el uso de fuentes proteicas con mayor digestibilidad.

Agradecimientos: Esta publicación es parte del proyecto FREE-RAB (PID2022-143036OB-I00) financiada por MICIU/AEI/10.13039/501100011033, así como el contrato predoctoral de Ramón-Moragues.

Bibliografía

- Carabaño R, Badiola I, Chamorro Francisco S, García J, García-Ruiz AI, García-Rebollar P, Gómez-Conde MS, Gutiérrez I, Nicodemus N, Villamide MJ, De Blas JC. 2008. New trends in rabbit feeding: Influence of nutrition on intestinal health. A review. *Span J Agric Res* 6 (Special issue):15-25.
- Gidenne T, Lapanouse A, Fortun-Lamothe L. 2003. Comportement alimentaire du lapereau sevré précocement: effet du diamètre du granulé. En: Bolet, G. (ed.) 10th Journées de la Recherche Cunicole, Paris. ITAVI, Paris, France, pp. 17-19.
- Gidenne T, Lebas F, Fortun-Lamothe L. 2010. Feeding behaviour of rabbits. En: *The Nutrition of the Rabbit*. CABI. Wallingford. UK, 233-252.
- Paës C, Fortun-Lamothe L, Bébin K, Duperray J, Gohier C, Guené-Grand E, Rebours G, Aymard P, Bannelier C, Debrusse AM, Gidenne T, Combes S. 2019. Onset of feed intake of the suckling rabbit and evidence of dietary preferences according to pellet physical properties. *Anim Feed Sci Technol* 255 :114223.
- Xiccato, G. 1999. Feeding and meat quality in rabbits: a review. *World Rabbit Sci* 7:75-86.

Efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el crecimiento, la mucosa intestinal y la microbiota cecal en conejos

Effect of the addition of protected sodium butyrate on growth, intestinal mucosa and cecal microbiota in rabbits

Ramón Moragues A^{1*}, Marín García P², Martínez Paredes E¹, Franch-Dasí J¹, Ródenas L¹, López MC¹, Larsen T³, Pascual JJ¹, Cambra López M¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de Valencia, 46022 Valencia, España.

²Departamento de Producción y Sanidad Animal, Salud Pública Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos (PASAPTA), Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera CEU, 46115 Valencia, España.

³Department of Animal Science, Aarhus University, Blichers Allé 20, 8830 Tjele, Denmark.

*adramo@upv.es

Resumen

El objetivo fue evaluar el efecto de la adición del butirato sódico protegido en la dieta de conejos de engorde sobre el crecimiento, la función y estructura de la mucosa intestinal, y la modulación de la microbiota cecal. Se compararon dos piensos experimentales (control, CON; y control con butirato sódico (0,96 g de ácido butírico/kg), BUT) en 552 conejos desde los 29 hasta los 63 días de vida. Estos se alojaron en jaulas colectivas (33 réplicas/tratamiento para mortalidad y toma de muestras) y jaulas individuales (78 réplicas/tratamiento para rendimientos productivos). A los 45 días de vida se muestreó el tracto gastrointestinal de 16 conejos/tratamiento para medir pH a lo largo del tracto, medir biomarcadores plasmáticos de salud digestiva y función intestinal, histomorfología del yeyuno y analizar la composición de la microbiota cecal. Además, se evaluó la cinética de liberación del butirato a lo largo del intestino. La adición de ácido butírico en el pienso de conejos BUT no tuvo un impacto significativo en los rendimientos productivos, la mortalidad y la incidencia de diarrea en comparación con CON. No modificó significativamente el pH del tracto gastrointestinal y la composición de la microbiota cecal. Sin embargo, su adición mejoró significativamente la altura de las vellosidades yeyunales y mantuvo la profundidad de las criptas en comparación con CON. Además, aumentó significativamente la concentración de ácido butírico en el íleon y redujo el D-lactato en el plasma sanguíneo.

Palabras clave: conejos de engorde, aditivos, ácido butírico, salud digestiva.

Abstract

The objective was to evaluate the effect of the addition of protected sodium butyrate in the diet of fattening rabbits on growth, function and structure of the intestinal mucosa, and modulation of the caecal microbiota. Two experimental feeds (control, CON and control with sodium butyrate (0.96 g butyric acid/kg), BUT) were compared in 552 rabbits from 29 to 63 days of age. Rabbits were housed in group cages (33 replicates/treatment for mortality and sampling) and individual cages (78 replicates/treatment for productive performances). At 45 days of age, the gastrointestinal tract of 16 rabbits/treatment was sampled to measure pH along the tract, measure plasma biomarkers of digestive health and intestinal function, jejunal histomorphology and analyse caecal microbiota composition. In addition, the kinetics of butyrate release along the intestine were evaluated. The addition of butyric acid in the feed of BUT rabbits had no significant impact on productive performances, mortality and incidence of diarrhoea compared to CON. It did not significantly modify the pH of the gastrointestinal tract and the composition of the caecal microbiota. However, its addition significantly improved jejunal villi height and maintained crypt depth compared to CON. In addition, it significantly increased butyric acid concentration in the ileum and reduced D-lactate in blood plasma.

Keywords: fattening rabbits, additives, protected butyric acid, gastrointestinal health.

Introducción

El ácido butírico es un ácido graso volátil de cadena corta con múltiples beneficios para la salud intestinal. Este compuesto es fuente de energía para enterocitos y colonocitos, ayuda a mantener la integridad del epitelio intestinal, mejora la morfología y función de la mucosa luminal y aumenta la superficie de absorción del intestino (Moquet *et al.*, 2016). Además, se ha observado un efecto modulador de la microbiota, manteniendo una microbiota saludable, reduciendo la incidencia de infecciones intestinales (Li *et al.*, 2020).

No obstante, debido a su bajo peso molecular, se metaboliza rápidamente, siendo absorbido y utilizado rápidamente por las células intestinales. Además, es muy volátil, por lo que complica su manejo y uso. En consecuencia, la biodisponibilidad del ácido butírico desde el duodeno hasta el resto del tracto digestivo se ve comprometida. Por eso, es necesario proteger el ácido butírico para que aumente la disponibilidad de este compuesto a lo largo del tracto intestinal. Por ello, esta molécula se utiliza comúnmente como sales de butirato protegidas o libres, o como butirinas (mono-, di- o triglicéridos) (Moquet *et al.*, 2016).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de un butirato sódico protegido en la dieta de conejos de engorde sobre el crecimiento, la función y estructura de la mucosa intestinal, y la modulación de la microbiota cecal.

Material y métodos

El procedimiento se llevó a cabo en la granja experimental de la Universitat Politècnica de València (UPV) y fue autorizado con el código 2022 VSC PEA 0111.

Como fuente de ácido butírico, se utilizó una sal sódica comercial autorizada para conejos (Butirex; NOVATION 2002 S.L.U.). Este producto está compuesto por butirato sódico protegido (44% de butirato). Los piensos utilizados durante la prueba se formularon siguiendo las recomendaciones nutricionales para conejos en crecimiento (de Blas and Mateos, 2020). Se utilizaron dos tratamientos experimentales: un pienso control negativo sin adición de ácido butírico (CON) y otro con adición de butirato sódico protegido (BUT) a una concentración de 3 g/kg de pienso. Ambos piensos se fabricaron con la misma proporción de ingredientes, cuya composición analítica en base a materia seca fue: 16% proteína bruta, 13,1% almidón, 3,6% extracto etéreo, 9,7% cenizas, 37,0% fibra detergente neutro, 21,7% fibra ácido detergente y 3,50% lignina ácido detergente. La concentración analizada de ácido butírico en BUT fue de 0,96 g/kg.

En el ensayo se utilizaron 552 conejos de la línea genética LP de la UPV, destetados a los 29 días de edad. La duración de la prueba fue desde los 29 hasta los 63 días de vida. Tras el destete, 396 animales se alojaron en jaulas colectivas (50 × 80 × 32 cm) para el control de la mortalidad y la toma de muestras (33 réplicas/tratamiento; 6 animales/jaula). Además, otros 156 animales se alojaron en jaulas individuales (44 × 52 × 32 cm) para el control de los rendimientos productivos (78 réplicas/tratamiento). A los 29, 43 y 63 días de edad, los animales alojados individualmente se pesaron, y se registró su consumo de pienso. Con ello se determinó la ganancia media diaria (GMD), el consumo medio diario de pienso (CMD) y el índice de conversión alimenticia (IC). La mortalidad se registró diariamente y se calculó por tratamiento sobre el número total de animales (individuales + colectivos). La incidencia de trastornos digestivos se controló diariamente y se calculó por tratamiento sobre el total de los animales alojados individualmente.

Adicionalmente, a los 45 días de edad, 16 animales por tratamiento procedentes de jaulas colectivas fueron sacrificados y muestreados para la histomorfología en yeyuno (30 mediciones en yeyuno de la altura de vellosidades, la profundidad de criptas y su ratio). Asimismo, se midió el pH a lo largo del tracto gastrointestinal (fundus, antrum, duodeno, yeyuno, íleon y ciego). De estos animales, también se obtuvo muestra de plasma sanguíneo para determinar el metabolito microbiano D-lactato, el biomarcador enzimático de madurez intestinal diamino oxidasa (DAO) y el contenido en aminoácidos libres (plasma free amino acids, PFAAs). El D-lactato se analizó mediante un ensayo enzimático-fluorométrico según Larsen (2017) y los PFAAs según Larsen y Fernández (2017). La actividad de DAO se determinó por un método cinético-fluorométrico, utilizando 1,5-diaminopentano (cadaverina) como sustrato y 10-acetil-3,7-dihidroxifenoxazina como profluoróforo. Las unidades de actividad se expresaron como d-emisión a 590 nm tras excitación a 544 nm.

Finalmente, se obtuvo una muestra del contenido cecal para el análisis de la microbiota mediante secuenciación del gen 16S rRNA. Los amplicones de la región V3-V4 se secuenciaron con tecnología MiSeq (Illumina) en Microo-

mics (Barcelona, España). Además, se determinó la cinética de liberación de ácido butírico a partir de su contenido en duodeno, yeyuno, íleon y ciego (concentración determinada por cromatografía de gases en cada sección).

Los datos obtenidos se analizaron mediante un modelo lineal general de SAS System Software® SAS 9.3. En el caso de los datos de los rendimientos productivos se tuvo en cuenta en el modelo las medidas repetidas. La significación se estableció para $P < 0,05$. Para el análisis bioinformático de la composición del microbioma, se procesaron las lecturas demultiplexadas en direcciones forward y reverse utilizando QIIME2 y se realizó la asignación de filotipos con el pipeline Dada2.

Resultados y discusión

La **Tabla 1** muestra el efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el rendimiento productivo. Los gazapos se destetaron con un peso vivo de 613 g y alcanzaron los 1915 g a los 63 días de vida, como media. No se observaron diferencias significativas en las variables productivas entre BUT y CON. Li *et al.* (2020) tampoco observaron una mejora del crecimiento en conejos destetados con una inclusión de butirato sódico de 5 g/kg durante 28 días. Ribeiro *et al.* (2012) tampoco observó una mejoría en la GMD ni en el CMD, pero sí en el IC con la inclusión de 5 g/kg de butirato sódico recubierto en conejos desde los 23 hasta los 63 días de vida. Sin embargo, Zhang *et al.* (2023) obtuvieron mejoras significativas en el CMD y la GMD con una inclusión de 3 g/kg de butirato sódico en conejos desde el destete a los 30 días de edad hasta los 60.

Tabla 1. Efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre el rendimiento productivo.

Días	Peso vivo			GMD			CMD			IC		
	29	43	63	29-43	43-63	Global	29-43	43-63	Global	29-43	43-63	Global
CON	613,7	1116,6	1914,8	35,9	38,0	37,0	74,1	121,3	97,2	2,04	3,20	2,63
BUT	612,8	1114,7	1914,8	35,8	38,1	36,9	73,1	122,3	98,2	2,08	3,23	2,66
EEM	8,8	13,1	17,9	0,5	0,5	0,4	1,0	1,0	0,9	0,03	0,03	0,02
P-Valor	0,945	0,917	0,999	0,894	0,923	0,985	0,461	0,551	0,435	0,310	0,545	0,269

n CON: 68 animales; n BUT: 70 animales. GMD: ganancia media diaria (g/día); CMD: consumo medio diario (g/día); IC: índice de conversión alimenticia. Tratamientos: CON (control) y BUT (Butirato sódico). $P < 0,05$ diferencias significativas. EEM: error estándar de la media.

En el caso de la mortalidad y la incidencia de trastornos digestivos, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. La incidencia de trastornos digestivos se situó entre $10,26 \pm 3,43\%$ (CON) y $12,82 \pm 3,79\%$ (BUT). La mortalidad fue $5,12 \pm 1,38\%$ (CON) y $5,91 \pm 1,48\%$ (BUT). En este caso, Zhang *et al.* (2023) sí observaron una disminución de la mortalidad y la incidencia de diarreas con la inclusión de butirato sódico en pienso (3 g/kg).

La **Tabla 2** muestra el efecto de la adición de butirato sódico protegido sobre la histomorfología del yeyuno y los biomarcadores plasmáticos de salud intestinal y función de la mucosa. El butirato promovió el desarrollo de las vellosidades en los animales alimentados con BUT, aumentando la superficie de absorción en comparación con el CON ($+29,7 \pm 3,6 \mu\text{m}$; $P < 0,001$). La profundidad de las criptas no fue significativamente distinta en función del pienso y BUT mostró una tendencia a mejorar la ratio vellosidades/criptas. Estos resultados serían similares a los obtenidos por Zhang *et al.* (2023) con la inclusión del butirato, donde observó una mejora la altura de las vellosidades del íleon y la ratio vellosidades/criptas; o por Li *et al.* (2020) donde la inclusión de butirato sódico disminuyó la profundidad de las criptas en yeyuno y aumento la altura de las vellosidades en el íleon.

Tabla 2. Efecto de la inclusión de butirato sódico protegido sobre la histomorfología intestinal y biomarcadores plasmáticos de salud intestinal y función de la mucosa.

	Vellosidades (V)	Criptas (C)	Ratio V:C	DAO	D-Lactato	PFAAs
CON	322,8 ^a	117,9	2,76	101,6	9,88 ^b	1680,5
BUT	352,5 ^b	119,8	2,97	102,6	5,97 ^a	1689,9
EEM	3,6	1,3	0,11	8,4	1,06	37,7
P-Valor	<0,001	0,258	0,157	0,935	0,010	0,860

n: 16 animales/tratamiento con 30 mediciones por animal (histomorfología); n: 12 animales/tratamiento (digestibilidad). Vellosidades: altura vellosidades (μm); Criptas: profundidad de las criptas (μm); Ratio V:C: ratio de altura vellosidades/profundidad de las criptas por animal; DAO: diamoxidasa, en unidades de fluorescencia; D-Lactato: en microM; PFAAs: Grupos amino libres, en microequivalentes. Tratamientos: CON (control) y BUT (Butirato sódico). $P < 0,05$ diferencias significativas. EEM: error estándar de la media.

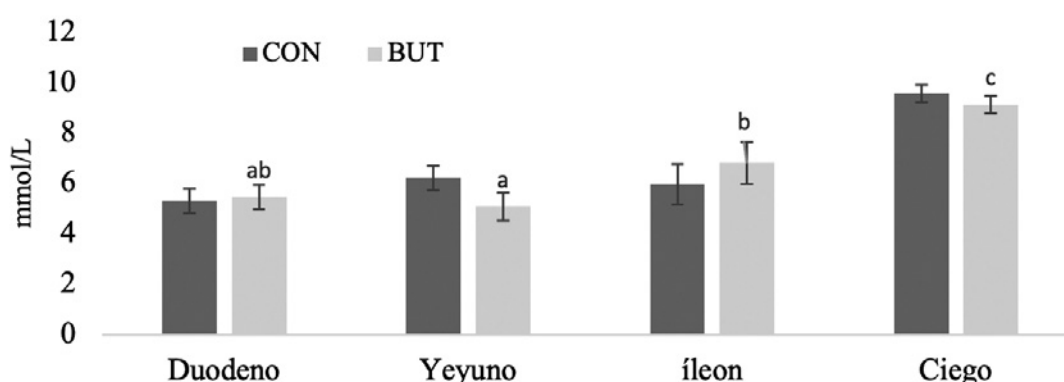
Respecto a los biomarcadores plasmáticos, no se observaron diferencias significativas en el nivel de DAO y PFAAs entre BUT y CON. En cambio, la adición de butirato sódico disminuyó el D-lactato en plasma, el cual es producido por bacterias fermentativas del tracto gastrointestinal. Este metabolito microbiano es absorbido

por las células epiteliales del intestino delgado y el colon, y normalmente es convertido en ácidos grasos volátiles por otras bacterias. Generalmente se encuentra en niveles plasmáticos bajos en animales sanos, y es una medida indirecta de una menor permeabilidad intestinal. Por otro lado, la inclusión de butirato sódico no modificó el pH a lo largo del tracto gastrointestinal (pH antrum = 1,36; pH duodeno = 7,05; pH yeyuno = 7,45; pH íleon = 7,65 y pH ciego = 5,97), a excepción del fundus, que aumentó con BUT ($1,69 \pm 0,19$ vs. $2,37 \pm 0,19$; CON y BUT, respectivamente; $P=0,018$).

A pesar de que el ácido butírico puede ejercer una importante función moduladora de la microbiota intestinal (Li *et al.*, 2020), nuestros resultados indican que el perfil taxonómico de la microbiota cecal no se vio afectado por la adición de butirato sódico. La abundancia relativa a nivel de filo en BUT y CON mostró que el filo más abundante fue Firmicutes (85%), seguido de Verrucomicrobiota (9,28%) y Bacteroidota (1,41%). Tampoco se observaron diferencias a niveles de Clase, Orden, Familia y Género.

Finalmente, la **Figura 1** muestra la concentración de ácido butírico a lo largo del tracto gastrointestinal. No se observaron diferencias significativas en la concentración de ácido butírico entre BUT y CON en cada uno de los tramos. Esto puede deberse al efecto de la cecotrofia, donde se produce una reingestión de los cecotrofos, ricos en ácidos grasos volátiles como el butírico (Johnson-Delaney, 2006). Sin embargo, aunque la concentración de ácido butírico se constante en CON, en BUT se produjo un aumento significativo en el íleon, respecto al yeyuno ($P=0,0492$). Por otro lado, el aumento de ácido butírico observado en el ciego proviene de la fermentación bacteriana que se da en dicha zona.

Figura 1. Cinética de liberación del ácido butírico a lo largo del tracto intestinal por tratamiento (n: 16). Letras diferentes muestras diferencias significativas. CON (control); BUT (butirato sódico protegido).



En conclusión, la adición de ácido butírico en pienso de conejos no tuvo un impacto significativo en los rendimientos productivos, la mortalidad y la incidencia de diarrea en comparación con el grupo CON. Tampoco modificó significativamente el pH del tracto gastrointestinal y la composición de la microbiota cecal. Sin embargo, su adición mejoró significativamente la altura de las vellosidades yeyunales en comparación con el tratamiento CON. Además, produjo un aumento de la concentración de ácido butírico en el íleon respecto al yeyuno, y redujo el D-lactato en el plasma sanguíneo.

Agradecimientos: esta publicación es parte del proyecto SMART-RAB (AICO/2021/256) financiado por la Generalitat Valenciana. Se agradece la financiación del contrato predoctoral de Ramón-Moragues A. asociado al proyecto FREERAB (PID2022-143036OB-I00) y financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y FSE+.

Bibliografía

- de Blas C, Mateos GG. 2020. Feed Formulation. En: de Blas, C., Wiseman, J. (ed.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd edition, CABI, Oxfordshire, UK.
- Johnson-Delaney CA. 2006. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. *Proceedings: Association of Avian Veterinarians*, 10:9-17.
- Larsen T. 2017. Fluorometric determination of D-lactate in biological fluids. *Anal Biochem* 539:152-157.
- Larsen T, Fernández C. 2017. Enzymatic-fluorometric analyses of glutamine, glutamate and free amino groups in protein-free plasma and milk. *J Dairy Res* 84:32-35.

- Li C, Chen X, Zhang B, Liu L, Li F. 2020. Sodium butyrate improved intestinal barrier in rabbits. *Italian J Animal Sci* 19(1):1482-1492.
- Moquet PCA, Onrust L, Van Immerseel F, Ducatelle R, Hendriks WH, Kwakkel RP. 2016. Importance of release location on the mode of action of butyrate derivatives in the avian gastrointestinal tract. *World Poultry Sci J* 72(1):61-80.
- Ribeiro J, Gaspar s, Pinho M, Freire JP, Falcão-e-Cunha L. 2012. Sodium butyrate in growing and fattening diets for early-weaned rabbits. *World Rabbit Sci* 20(4):199-207.
- SAS Institute. 2001. SAS/STAT® User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA
- Zhang B, Liu M, Yue Z, Chen X, Li C, Liu L, Li F. 2023. Combined omics analysis further unveils the specific role of butyrate in promoting growth in early-weaning animals. *Int J Mol Sci* 24(2):1787.

Optimización del perfil proteico ideal mediante metabolómica no dirigida en conejos

Optimization of the ideal protein profile through untargeted metabolomics in rabbits

Marín-García PJ^{*}, Llobat L¹, Cortés-García C¹, Cambra-López M², Blas E², Torben L³, Pascual JJ², Skou-Hedemann M³

¹ Department of Animal Production and Health, Veterinary Public Health and Food Science and Technology (PASAPTA), Institute of Biomedical Sciences, Cardenal Herrera-CEU University, CEU Universities, Valencia, Spain.

² Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain.

³ Department of Animal and Veterinary Sciences, Aarhus University, Tjele, Denmark.

* pablo.maringarcia@uchceu.es

Resumen

El concepto de proteína ideal se refiere a un perfil de aminoácidos (AA) que satisface las necesidades mínimas del animal, optimizando su crecimiento y reduciendo la contaminación. Sin embargo, su aplicación es compleja debido a que los requerimientos nutricionales son variables, por lo que es fundamental contar con herramientas precisas y rápidas para su evaluación. La metabolómica ha supuesto una revolución, permitiendo conocer el metaboloma completo de cada individuo. En este estudio, planteamos la hipótesis de que existen biomarcadores que pueden ayudar a definir la proteína ideal. Se analizaron muestras de plasma de conejos alimentados con dietas experimentales, modulando sus niveles de AA esenciales, siguiendo diferentes estrategias de alimentación y bajo distintos escenarios. Los resultados mostraron que las variaciones en los niveles de AA alteran el fenotipo metabólico de manera más significativa e inmediata que otras medidas tradicionales. Además, identificamos varios biomarcadores con gran potencial para profundizar en el concepto de proteína ideal. Este trabajo propone metabolitos candidatos prometedores —el ácido cítrico, entre otros— como biomarcadores para futuras investigaciones.

Palabras clave: proteína ideal, metabolitos, nitrógeno, biomarcador, engorde.

Abstract

The concept of an ideal protein refers to an amino acid (AA) profile that meets the minimum animal's requirements, optimizing growth and reducing environmental impact. However, its application is complex due to the variability of nutritional requirements, making it essential to have precise and rapid tools for their assessment. Metabolomics has brought a revolution, enabling the comprehensive profiling of everyone's metabolome. In this study, we hypothesize that specific biomarkers can help define ideal protein. Plasma samples from rabbits fed experimental diets were analyzed, modulating their essential AA levels, following different feeding strategies, and under various scenarios. The results showed that variations in AA levels alter the metabolic phenotype more significantly and quick than other traditional measures. Furthermore, we identified several biomarkers with great potential to deepen the understanding of the ideal protein concept. This study propose metabolites as promising candidates —citric acid, among others— for future research as biomarkers.

Keywords: ideal protein, metabolites, nitrogen, amino acids, biomarker, growing.

Introducción

En un contexto en el que las recomendaciones de proteína en las dietas de conejos de engorde se han reducido, comprender la proporción de aminoácidos (AA) a incluir en la dieta se vuelve más importante (Carabaño *et al.*, 2010). Se entiende como "proteína ideal" la combinación de AA que optimiza la utilización proteica, lo que conduce a una máxima retención nutricional y a una mínima excreción (Van Milgen and Dourmad, 2015). En una dieta formulada bajo el concepto de proteína ideal, no hay ningún AA limitante o, lo que es lo mismo, todos los AA están en equilibrio

y colimitando. Esta formulación es posible mediante una comprensión integral de los requerimientos aminoacídicos de cada animal, donde conviven unas necesidades dinámicas con la nutrición de precisión.

En este contexto de nutrición de precisión, la incorporación de nuevas herramientas –como la metabolómica– puede constituir un recurso de gran potencial para estudiar el conjunto de todos los metabolitos de los individuos (metaboloma). Una de sus aplicaciones más importantes es la búsqueda de biomarcadores, entendidos como características objetivamente medibles (Mastrangelo *et al.*, 2015). Estos biomarcadores podrían ser empleados para abordar mejor el concepto de proteína ideal.

Será especialmente interesante evaluar aquellos AA esenciales, ya que son los susceptibles de convertirse en limitantes, como la lisina (Lys), los AA azufrados (metionina y cistina; Met) y la treonina (Thr). Éstos son los AA típicamente limitantes en conejos de engorde. Este trabajo trata de abordar de una manera integral la prospección de biomarcadores que puedan ser relevantes para profundizar en el concepto de proteína ideal en conejos de engorde utilizando la metabolómica no dirigida.

Material y métodos

Se utilizaron un total de 169 muestras de plasma de conejos en crecimiento. Para garantizar un mayor grado de representatividad, como recoge la **Tabla 1** se utilizaron muestras de distintos experimentos con diferentes números de muestras y tratamientos (Por ejemplo, una única extracción plasmática por animal, o múltiples extracciones de un mismo animal que se alimenta con todos los tratamientos, utilizando medidas repetidas). Todas las dietas fueron formuladas de acuerdo con las recomendaciones nutricionales (de Blas y Mateos, 2010) para todos los nutrientes, exceptuando los niveles de Lys, Met y Thr cuyo contenido fue variable (**Tabla 2**).

Tabla 1. Resumen de las variables empleadas en cada experimento

Experimento	Muestras (n)	Dietas	Medidas repetidas	Tipo de alimentación
1	48	MMM MBM	SÍ	A voluntad
2	53	AAA MMM BBB MAB BMM	NO	Restringido
3	68	MAB MBB	SÍ	A voluntad y restringidos

Tabla 2. Niveles de Aminoácidos en las dietas experimentales (AA; g/kg materia seca).

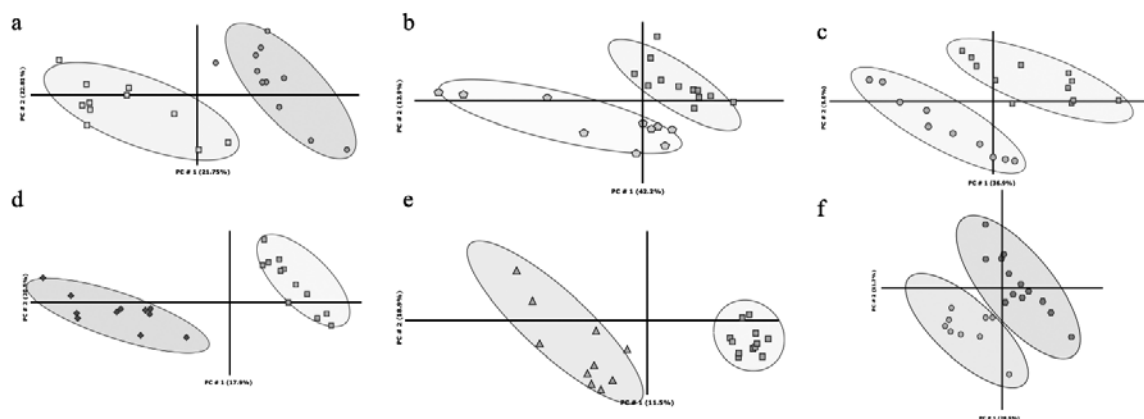
Dieta	Lisina	AA azufrados (Metionina + Cisteína)	Treonina
MMM	8.1	5.8 (2.37 + 3.43)	6.9
MBM	8.1	4.9 (2.37 + 2.53)	6.9
AAA	9.4	6.6 (2.37 + 4.23)	7.8
BBB	6.7	4.9 (2.37 + 2.53)	5.7
BMM	6.7	5.8 (2.37 + 3.43)	6.9
MAB	8.1	6.6 (2.37 + 4.23)	5.7
MBB	8.1	4.9 (2.37 + 2.53)	5.7

Todas las muestras de plasma recogidas fueron sometidas a un análisis de metabolómica no dirigida. Debido a la complejidad de la metodología, los detalles sobre los análisis metabolómicos por Cromatografía Líquida-Cromatografía de Masas (LC-MS), incluyendo el uso de solventes y estándares químicos, la preparación de muestras, el control de calidad de las muestras, el preprocesamiento de datos metabolómicos, la identificación de metabolitos y el análisis estadístico de los metabolitos, pueden consultarse en estudios previos realizados por este mismo grupo de investigación (Marín-García *et al.*, 2024a, 2024b y 2024c).

Resultados y discusión

Tal como se observa en la **Figura 1**, todas las dietas experimentales presentaron un metaboloma distinto entre ellas. Como se muestra, la variabilidad asociada con estos componentes principales obtenidos del perfil metabólico (superando en promedio más del 50% del total) puede ser utilizada para diferenciar las dietas experimentales, ya que no existe superposición entre los grupos. Esta clara diferenciación en el metaboloma, generada en un intervalo muy breve de tiempo, únicamente debido a un desequilibrio en un AA, demuestra la sensibilidad de esta herramienta y su potencial para contribuir a la identificación de biomarcadores (Mastrangelo *et al.*, 2015).

Figura 1. Resumen de los datos obtenidos por metabolómica no dirigida. Experimento 1 (a), Experimento 2 (b-e) y Experimento 3 (f). Modelos de mínimos cuadrados parciales del plasma de conejos. Las formas y colores representan cada una de las dietas experimentales; □: MMM, ○: MBM, ◇: AAA, △: BBB, ◇: BMM, ●: MAB, ○: MBB. Estas gráficas han sido adaptadas de Marín-García et al. (2024c) y datos no publicados.



Una vez comprobado que existe un perfil metabolómico distinto, llega el momento de analizar los metabolitos que son responsables de esta diferenciación. Debido a las limitaciones de espacio en este trabajo, solo se mostrarán algunos de los que resultaron especialmente significativos. Este es el caso del ácido cítrico. Varios metabolitos relacionados con las rutas metabólicas del ácido cítrico han mostrado ser significativos en los experimentos realizados. En el Experimento 2, se observó una relevancia estadística para el ácido cítrico ($P = 0.0093$) y el ácido isocítrico ($P = 0.0233$). Además, en el Experimento 3, se encontró una significancia estadística adicional ($P = 0.018$) para el ácido cítrico. Este metabolito es crucial en diferentes vías metabólicas relacionadas con los AA y se ha demostrado que está involucrado en la vía final de la degradación de proteínas. De hecho, se ha observado que el ácido cítrico podría estar relacionado con el metabolismo de proteínas y el ciclo de la urea (Akram, 2014). Otros metabolitos propuestos como biomarcadores prometedores incluyen el ácido hidroxipropiónico ($P < 0.001$) y el ácido hidroxioctadecadienoico ($P = 0.024$), ya que las diferencias observadas en sus niveles no pudieron ser atribuidas a niveles más altos o bajos de un AA específico. Estas variaciones probablemente se deben a la interacción entre AA, haciéndolos especialmente interesantes para ahondar en el concepto de proteína ideal.

En conclusión, el fenotipo metabólico sufre modificaciones cuando los animales se someten a un cambio dietético en los niveles de tres AA esenciales en un período corto de tiempo. Estas alteraciones en el metaboloma permiten diferenciar claramente las dietas experimentales, detectables mediante metabolómica no dirigida. Además, ciertos metabolitos clave podrían desempeñar un papel fundamental como biomarcadores en la investigación para optimizar la aplicación del concepto de proteína ideal, impulsando la nutrición de precisión hacia una mayor eficiencia y sostenibilidad.

Agradecimientos: este estudio fue financiado por la Consejería Regional de Innovación, Universidades, Ciencia y Sociedad Digital de la Generalitat Valenciana (CIGE/2023/12), la Universidad Cardenal Herrera-CEU (GIR24/34) y el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (PID2022-143036OB-I00).

Bibliografía

- Akram M. 2014. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell Biochem Biophys* 68:475-478. <https://doi.org/10.1007/s12013-013-9750-1>.
- Blas CD, Mateos GG. 2010. Feed formulation, in: Blas, C.D., Wiseman, J. (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*. CABI, UK, pp. 222-232. <https://doi.org/10.1079/9781845936693.0222>.
- Carabaño R, Villamide MJ, García J, Nicodemus N, Llorente A, Chamorro S, Menoyo D. 2010. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Sci* 17:1-14. <https://doi.org/10.4995/wrs.2009.664>.
- Marín-García PJ, García-Párraga D, Crespo-Picazo JL, Stacy NI, Llobat L, Cambra-López M, Blas E, Pascual JJ, Larsen T, Hedemann MS. 2024a. Decoding sex-specific metabolomic biomarkers in the loggerhead sea

- turtle (*Caretta caretta*). *Commun Biol* 7:1329. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-07033-4>.
- Marín-García PJ, Llobat L, Cambra-López M, Blas E, Larsen T, Pascual JJ, Hedemann MS. 2024b. Biomarkers for ideal protein: rabbit diet metabolomics varying key amino acids. *Commun Biol* 7:712. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06322-2>.
- Marín-García PJ, Piles M, Sánchez JP, Pascual M, Llobat L, Pascual JJ, Hedemann MS. 2024c. Untargeted urine metabolomics suggests that ascorbic acid may serve as a promising biomarker for reduced feed intake in rabbits. *Sci Rep* 14:29180. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-80701-x>.
- Mastrangelo A, Ferrarini A, Rey-Stolle F, García A, Barbas C. 2015. From sample treatment to biomarker discovery: A tutorial for untargeted metabolomics based on GC-(EI)-Q-MS. *Anal Chim Acta* 900:21-35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.001>.
- Van Milgen J, Dourmad J-Y. 2015. Concept and application of ideal protein for pigs. *J Animal Sci Biotechnol* 6:15. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0016-1>.

Influencia del nivel de fibra insoluble sobre la digestibilidad y el flujo ileal de la materia seca, proteína, almidón y fibra dietética en gazapos tras el destete

Influence of insoluble fibre level on ileal digestibility and flow of dry matter, protein, starch and dietary fibre in growing rabbits

Romero C², Farias-Kovac C¹, Nicodemus N¹, García J^{1*}

¹ Department of Animal Production and Health, Veterinary Public Health and Food Science and Technology (PASAPTA), Institute of Biomedical Sciences, Cardenal Herrera-CEU University, CEU Universities, Valencia, Spain.

² Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain.

³ Department of Animal and Veterinary Sciences, Aarhus University, Tjele, Denmark.

* pablo.maringarcia@uchceu.es

Resumen

En trabajos previos, observamos que tanto un déficit como un exceso de fibra insoluble en el pienso (FND, fibra neutro-detergente) empeoraron la salud de los gazapos tras el destete. En este trabajo, se estudió la influencia del nivel de FND sobre la digestibilidad y el flujo ileal de distintos componentes del pienso. Se seleccionaron tres trabajos que estudiaron estas variables utilizando tratamientos con amplias variaciones de FND. El incremento de FND (de 268 a 438 g FND/kg MS) aumentó el consumo de alimento y redujo la digestibilidad ileal de la materia seca y de la proteína (en estas últimas el aumento fue de 268 a 490 g FND/kg MS), lo que supuso un incremento del flujo ileal de ambas ($P \leq 0,002$). Por su parte, el incremento de FND no modificó ni la digestibilidad ileal del almidón (95% de media) ni su flujo a nivel ileal (1 g/d de media). El componente más importante del flujo ileal es la fibra dietética (55% de media) y su composición podría tener un papel relevante en la salud digestiva junto con la cantidad de proteína que llegue al ciego. Por el contrario, no parece que el flujo ileal de almidón tenga un gran efecto al respecto.

Palabras clave: fibra insoluble, digestibilidad ileal, gazapos en crecimiento.

Abstract

In previous studies, we observed that both a deficit and an excess of insoluble fibre in the feed (NDF, neutral-detergent fibre) worsened the health of the rabbits after weaning. In this work, the influence of NDF level on digestibility and ileal flow of feed components was studied. Three papers were selected that studied these variables using treatments with significant variations in NDF. The increase of NDF (from 268 to 438 g NDF/kg DM) enhanced feed intake, reduced ileal digestibility of dry matter and protein (in the latter two from 268 to 490 g NDF/kg DM), and increased ileal flow of both ($P \leq 0.002$). In contrast, the increase of NDF did not change either ileal digestibility of starch (95% on average) or its ileal flow (1 g/d on average). The most important component of ileal flow is dietary fibre (55% on average) and its composition could play a relevant role in digestive health together with the amount of protein reaching the caecum. In contrast, the ileal flow of starch does not seem to have a large effect in this respect.

Keywords: insoluble fibre, ileal digestibility, growing rabbits.

Introducción

Las funciones de la fibra (dietética) insoluble están mayoritariamente vinculadas con su capacidad de estimular la motilidad intestinal (Gidenne et al., 2020a). Un nivel de fibra insoluble bajo (< 300 g fibra neutro-detergente -aFNDmo-/kg pienso) supone un incremento del tiempo medio de retención de la digesta (especialmente en el ciego), lo que lleva a una reducción del consumo, a un empeoramiento de la mucosa intestinal y, normalmente, a un mayor riesgo de problemas digestivos. Para evitar esta acumulación de digesta en el

ciego, es necesario aportar ese mínimo de fibra insoluble. Además, ésta ha de cumplir una serie de características, como que aporte un mínimo de partículas largas que estimulen la motilidad cecal y que terminarán formando parte de las heces duras. Normalmente, con los ingredientes que se utilizan en España es difícil encontrar piensos problemáticos que combinen poca fibra insoluble con una proporción elevada de partículas finas. Si bien, en algunos países donde no hay mucha disponibilidad de ingredientes fibrosos granulados, sí que pueden encontrarse piensos deficitarios en fibra. Dado que no es sencillo controlar el tamaño de partícula de la fibra, se suele utilizar el contenido en lignina como indicador del tamaño de partícula (aunque no siempre es así), y asegurar un mínimo en el pienso para garantizar la adecuada motilidad cecal. En la práctica, es habitual utilizar piensos con un elevado contenido en fibra insoluble (> 40% aFNDmo), y si es lignificada mejor, con el fin de reducir la cantidad de sustrato potencialmente utilizable por la microbiota cecal (y tratar ejercer una 'restricción alimenticia' sobre la microbiota) y acelerar la velocidad de tránsito cecal y, de esta manera, limitar la incidencia de trastornos digestivos. Si bien, esto último no siempre se consigue. De hecho, en trabajos realizados en nuestro Departamento hemos observado que tanto un déficit como un exceso de fibra insoluble puede incrementar la mortalidad (PFND2 = 0,13; Figura 1A). El objetivo de este trabajo es revisar qué implicaciones tiene el incremento del nivel de fibra insoluble del pienso sobre la digestibilidad y el flujo ileal de los distintos componentes del pienso en gazapos tras el destete.

Material y métodos

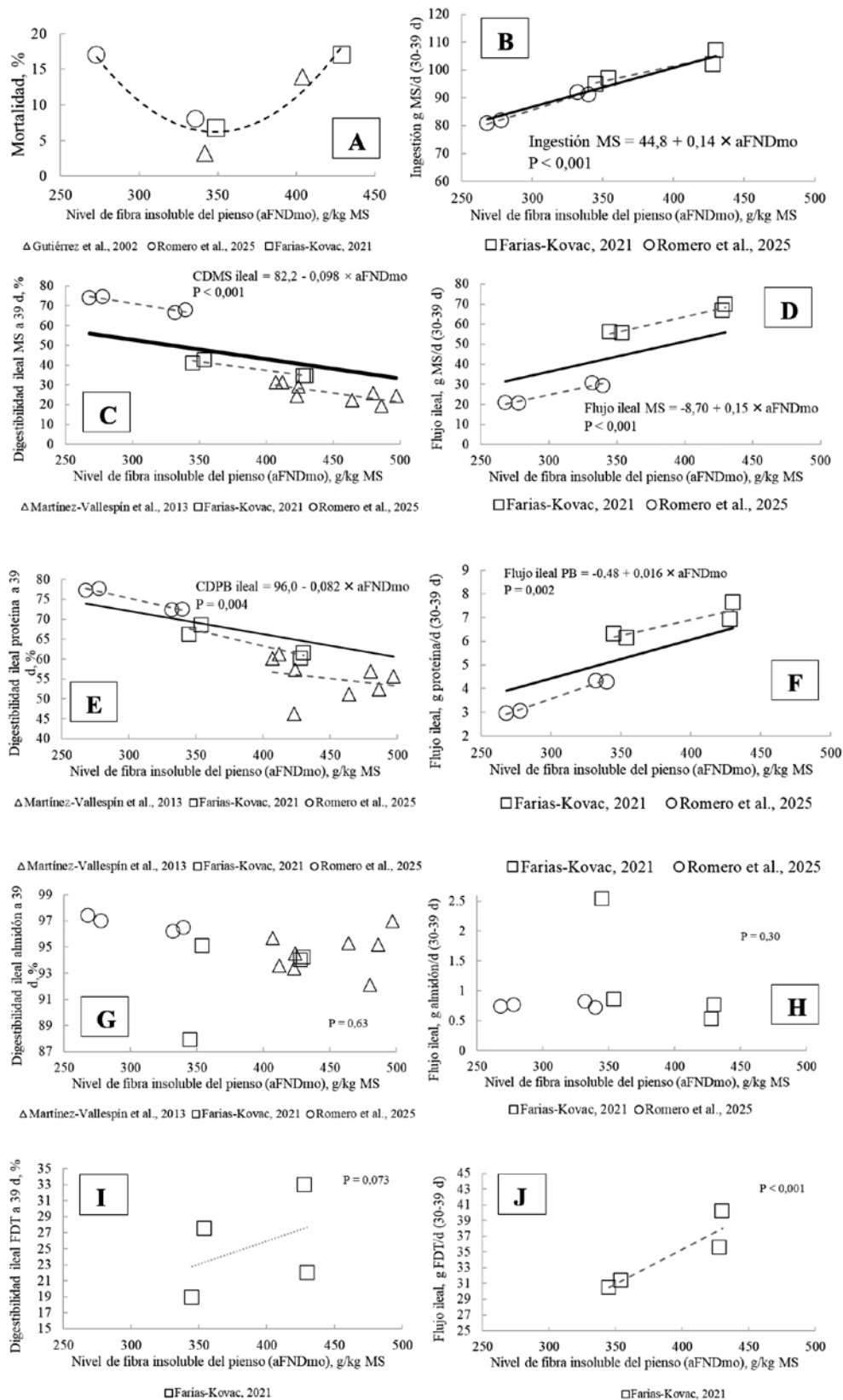
Se seleccionaron tres trabajos en los que se evaluó el efecto del nivel de fibra insoluble sobre la digestibilidad ileal en gazapos tras el destete: Martínez-Vallespín *et al.* (2013), Farias *et al.* (2019) y Farias-Kovac (2021), y finalmente Romero *et al.* (2025). En la **Tabla 1** se indican los datos de cada trabajo. Los datos se analizaron con un modelo mixto donde únicamente se evaluó el efecto lineal (y en su caso cuadrático) de la aFNDmo del pienso, y en el que el efecto del experimento se incluyó como una variable aleatoria. En las figuras (**Figura 1**) se representa la regresión obtenida con el modelo descrito y las observaciones originales.

Tabla 1. Características de los experimentos seleccionados: valores mínimos y máximos de cada variable estudiada

	Martínez-Vallespín <i>et al.</i> , 2013	Farias <i>et al.</i> , 2019; Farias-Kovac, 2021	Romero <i>et al.</i> , 2025
Nº tratamientos	8	4	4
Edad digestibilidad ileal	35 d	39 d	39 d
Otros factores en estudio	Nivel fibra soluble y proteína	Nivel fibra soluble	Tamaño de partícula de la fibra
Valores mínimos y máximos (entre tratamientos)			
Composición química del pienso, g/kg MS			
aFNDmo	407-497	345-430	268-340
Almidón	28-130	86-212	217-340
Proteína	144-176	183-198	167-169
Consumo, g MS/d	---	95-107	81-92
Digestibilidad ileal, %			
Materia seca	19-32	35-43	67-75
Proteína	46-61	60-69	72-78
Almidón	92-96	88-95	96-97
Fibra dietética total	---	19-33	---
Flujo ileal, g/d			
Materia seca	---	55-70	21-31
Proteína	---	6,1-7,6	3,0-4,3
Almidón	---	0,5-2,5	0,7-0,8
Fibra dietética total	---	30,5-40,2	---
Mucinas	---	5,1-8,5	---

aFNDmo: Fibra neutro detergente obtenida usando alfa-amilasa y corregida por cenizas. Flujo fibra dietética total: corregido por mucinas.

Figura 1. Efecto del nivel de fibra insoluble sobre: A) la mortalidad de gazapos en crecimiento en trabajos desarrollados en la UPM (PFND² = 0,13), B) el consumo de 30-39 d de edad, C) la digestibilidad ileal de la materia seca, D) el flujo ileal de materia seca, E) la digestibilidad ileal de la proteína, F) el flujo ileal de la proteína, G) la digestibilidad ileal del almidón, H) el flujo ileal del almidón, I) la digestibilidad de la fibra dietética total (FDT), J) el flujo ileal de fibra dietética total.



Resultados y discusión

El incremento del nivel de fibra insoluble aumenta la ingestión (1,4 g/d por cada 10 g/kg que aumenta la aFNDmo. Figura 1B) pues, por una parte, estimula la motilidad intestinal (siempre que se aporten partículas fibrosas > 0,3 mm), reduciendo el tiempo medio de retención, y por otra, se reduce el nivel de almidón y con ello la energía digestible, lo que supone que para satisfacer sus necesidades energéticas el animal ha de incrementar el consumo de pienso. Buena parte de la fibra insoluble que se incorpora a los piensos de conejos procede de forrajes (alfalfa, paja) y sub-productos de cereales y de otros cultivos (salvado, cascarilla de avena, granilla de uva, etc.) cuyo aprovechamiento digestivo es moderado o bajo (digestibilidad de la FND < 30%), por lo que, por cada 10 g/kg que aumenta la fibra insoluble en el pienso (aFNDmo), se reduce en 0,98 unidades porcentuales la digestibilidad ileal de la materia seca y aumenta el flujo ileal de digesta en 1,5 g MS/d (Figuras 1C y 1D). La composición de este flujo ileal de MS condiciona el tipo de microbiota que se desarrolla en el intestino grueso. En estos trabajos se observa como el aumento de 10 g/kg de aFNDmo reduce la digestibilidad ileal de la proteína (0,82 unidades porcentuales. Figura 1E) y aumenta el flujo ileal de proteína (0,16 g/d. Figura 1F). Este incremento del flujo ileal diario de proteína en parte se debe al aumento del flujo de sustancias endógenas y de proteína ligada a la fibra (Farias-Kovac, 2021), y podría explicar el incremento de la mortalidad observado en la Figura 1A (Carabaño et al., 2009). Sin embargo, en trabajos previos (utilizando niveles de 340 g aFNDmo/kg MS) se había asociado el incremento del flujo ileal de mucinas (o el incremento de las células caliciformes en la mucosa del intestino delgado unido a un incremento de la relación longitud vellosidades/profundidad criptas) con un efecto protector sobre la salud de los gazapos. Estos resultados son aparentemente contradictorios y podrían indicar que hay otros factores incidiendo sobre la salud intestinal a este nivel.

Curiosamente, el nivel de fibra insoluble no afectó a la digestibilidad ileal del almidón, que mostró de media un valor elevado (95%), ni al flujo ileal de almidón (1 g/d, representando únicamente un 2,5% del flujo diario de MS) (Figuras 1G y 1H). Estos resultados vuelven a sugerir la limitada incidencia del nivel de almidón sobre la salud intestinal como ya discutieron Gidenne et al. (2020b). Finalmente, el incremento del nivel de aFNDmo no suele influir sobre su digestibilidad fecal, sino que suele estar afectada por su grado de lignificación (García, 1997; Gidenne et al., 2020a). En este caso, solo hay datos de un trabajo al respecto (Farias-Kovac, 2021) donde el incremento del nivel de fibra insoluble tendió a aumentar la digestibilidad ileal de la fibra dietética, observándose un aumento importante en el flujo ileal de fibra dietética (Figuras 1I y 1J). Este último representó alrededor del 55% del flujo total de materia seca y su composición sí que podría tener una influencia relevante sobre la salud intestinal, interactuando directamente con la microbiota intestinal tanto a nivel ileal como cecal. En definitiva, todavía nos falta caracterizar mejor los distintos componentes que conforman la digesta ileal así como evaluar sus interacciones con la microbiota intestinal.

Bibliografía

- Carabaño R, Villamide MJ, García J, Nicodemus N, Llorente A, Chamorro S, Menoyo D, García-Rebollar P, García-Ruiz AI, De Blas JC. 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.* 17: 1-14.
- Farias C, Feijoo D, Gratta F, Brambillasca S, Ocasio-Vega C, Nicodemus N, Carabaño R, García J (2019). Efecto del nivel de fibra insoluble y soluble sobre la cantidad de fibra fermentada a nivel ileal, cecal y fecal en gazapos en crecimiento. *AIDA, XVIII Jornadas sobre Producción Animal*, 89-91.
- Farias-Kovac C. 2021. Effect of dietary soluble and insoluble fibre level, oligosaccharide supplementation and feed restriction on rabbit performance. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Madrid.
- García, 1997. Efecto de la fuente de fibra sobre la digestión en el conejo. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Madrid.
- Gidenne et al., 2020a. Fibre digestion. In: de Blas, C., Wiseman, J. (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*. CABI International, London, UK, pp. 69-88.
- Gidenne et al., 2020b. Nutrition and feeding strategy: impacts on health status. In: de Blas, C., Wiseman, J. (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*. CABI International, London, UK, pp. 193-221.
- Gutiérrez I, Espinosa A, García J, Carabaño R, de Blas JC. 2002. Effect of levels of starch, fiber, and lactose on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *J. Anim. Sci.* 80: 1029-1037.
- Martínez-Vallespín B, Martínez-Paredes E, Ródenas L, Moya VJ, Cervera C, Pascual JJ, Blas E. 2013. Partial replacement of starch with acid detergent fibre and/or neutral detergent soluble fibre at two protein levels: Effects on ileal apparent digestibility and caecal environment of growing rabbits. *Livest. Sci.* 154: 123-130.
- Romero C, Nicodemus N, Carabaño R, García J. 2025. Evaluation of type of grinding of lucerne hay and wheat straw in diets for growing rabbits with two levels of neutral detergent fibre. *Anim. Feed Sci. Technol.* 319:116193.

ALOJAMIENTO Y BIENESTAR

Evaluación preliminar del efecto de feromonas apaciguadoras en el bienestar y la productividad de conejas reproductoras

Resconi VC, Pérez Y, Bouzaida MD, Romero JV, López M, Campo MM

Biomarcadores del estrés por calor en dos líneas genéticas con diferente longevidad

Biada I, Ibáñez-Escriche N, Serrano D, García ML, Argente MJ, Santacreu MA

Respuesta de la microbiota intestinal al estrés térmico en dos líneas maternas de conejo con diferente longevidad

Biada I, Ibáñez-Escriche N, García ML, Argente MJ, Santacreu MA

Transición al alojamiento en grupo de conejas en sistemas de producción comercial

Manuelian CL, Salama AAK, Such X, Ruiz de la Torre JL, Casas C, Costa R, Mora FX

Estudio de los sistemas de cría de mayor bienestar para conejos de engorde

Murphy E, Moreno García-Doncel M, Bellegarde L, Legrand A.

Evaluación preliminar del efecto de feromonas apaciguadoras en el bienestar y la productividad de conejas reproductoras

Preliminary evaluation of the effect of appeasing pheromones on the welfare and productivity of breeding does

Resconi VC*, Pérez Y, Bouzaida MD, Romero JV, López M, Campo MM

Dept. Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, c/ Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza, España.

*resconi@unizar.es

Resumen

Este estudio evaluó el efecto del uso de feromonas apaciguadoras sintéticas (FAS) sobre el bienestar y parámetros reproductivos de conejas en monta natural. Se empleó un diseño experimental cruzado con 33 conejas de raza neozelandesa desde 0 a más de 20 partos y en dos épocas del año. Los resultados mostraron que la aplicación de FAS redujo la reactividad en la manipulación para la monta de las conejas: la proporción de animales más reactivos fue del 11,9 % en el grupo control y 5,0 % en el grupo tratado. Además, se observó un aumento en la cantidad de pelo en el nido con el uso de la feromona, alcanzando el 94,1 % de partos con cantidad de pelo media o alta, en comparación con el 78,7 % del grupo control. No obstante, no se encontraron diferencias significativas en la receptividad (53,6 % sin feromona vs. 55,6 % con feromona), la tasa de gestación (76,4 % vs. 75,0 %), la fertilidad al parto (68,0 % vs. 60,2 %), el número promedio de gazapos nacidos totales (10,1 vs. 8,8), nacidos vivos (9,3 vs. 8,2) y destetados (8,5 vs. 7,4). Por otro lado, las conejas con más partos mostraron una menor reactividad, menor receptividad, ciclos más largos y un menor número de gazapos destetados. En cuanto al efecto de la estacionalidad, se observó que el ciclo reproductivo (cubrición 11 d post-parto) fue significativamente más corto en primavera-verano (56,5 días) que en otoño-invierno (63,1 días), pero su efecto no fue significativo en el resto de los parámetros estudiados. En conclusión, las FAS podrían facilitar el manejo y mejorar ciertos aspectos del comportamiento maternal, como la preparación del nido, pero no se tradujo en mejoras productivas significativas en maternidad.

Palabras clave: feromonas apaciguadoras, época del año, número de parto, reactividad, pelo en el nido.

Abstract

This study evaluated the effect of the synthetic appeasing pheromones (FAS) on the welfare and reproductive parameters of rabbits in natural mating. A crossover experimental design was used with 33 New Zealand breed rabbits, ranging from 0 to over 20 litters, and across two seasons of the year. The results showed that the application of FAS reduced the reactivity during handling for mating: the proportion of more reactive animals was 11.9% in the control group and 5.0% in the treated group. Additionally, an increase in the amount of fur in the nest was observed with the use of the pheromone, reaching 94.1% of litters with medium or high fur, compared to 78.7% in the control group. However, no significant differences were found in receptivity (53.6% without pheromone vs. 55.6% with pheromone), gestation rate (76.4% vs. 75.0%), fertility at birth (68.0% vs. 60.2%), total number of live-born kits (10.1 vs. 8.8), live-born kits (9.3 vs. 8.2), and weaned kits (8.5 vs. 7.4). On the other hand, rabbits with more litters showed lower reactivity, lower receptivity, longer cycles, and fewer weaned kits. Regarding the effect of seasonality, it was observed that the reproductive cycle (mating 11 d post-partum) was significantly shorter in spring-summer (56.5 days) than in autumn-winter (63.1 days), but its effect was not significant for the other parameters studied. In conclusion, the FAS could facilitate management and improve certain aspects of maternal behavior, such as nest preparation, but did not translate into significant productive improvements in maternity.

Keywords: appeasing pheromones, seasonality, litter number, reactivity, nest fur.

Introducción

El conejo es una especie domesticada adaptada a las condiciones productivas, pero algunos individuos pueden mostrar miedo o agresividad ante la interacción con humanos u otros factores estresantes, como ruidos o cambios de alojamiento. Algunas conejas, además, pueden mostrar comportamientos agresivos hacia su propia camada, lo que puede derivar en canibalismo parcial, como mordeduras en las orejas, o incluso en canibalismo total (Rödel *et al.*, 2009). Además, las conejas reproductoras pueden ser agresivas entre sí cuando se alojan en grupo, y aunque a nivel comercial se alojan generalmente en jaulas individuales, una coneja dominante podría afectar el éxito reproductivo y la longevidad de su vecina de jaula (DiVincenti y Rehrig, 2016). Un buen manejo en granja puede reducir el miedo y la agresividad (EFSA, 2020), aunque hay alta variabilidad en la respuesta individual.

Una estrategia ya disponible comercialmente es el uso de feromonas apaciguadoras sintéticas (FAS) para reducir el estrés en animales de granja (o de compañía). Estas feromonas son compuestos sintéticos análogos a secreciones ubicadas en el surco entre las filas mamarias, identificadas inicialmente en cerdas y posteriormente en otras especies (Pageat y Gaultier, 2003). En el conejo, la feromona comercializada es una mezcla de ácidos grasos libres, ésteres y dímeros de ácidos grasos (Pageat, 2004).

Estudios previos en granjas francesas sugieren que el uso de FAS facilita la manipulación de las conejas y mejora los resultados productivos (Bouvier y Jacquinet, 2008; Pageat, 2004). Sin embargo, se requiere más investigación en distintos contextos. Este trabajo evalúa el efecto de FAS comercializadas como SecureRabbit® en términos de bienestar animal y resultados productivos en conejas reproductoras, utilizando simultáneamente dos módulos independientes en una misma nave, uno con y otro sin feromona en un diseño cruzado. Además, se consideran como efectos adicionales la época del año y el número de partos, que podrían influir en la respuesta al tratamiento.

Material y métodos

Este estudio se llevó a cabo en el Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza, utilizando dos módulos independientes de las mismas dimensiones (10,6 x 5,4 m) en una misma nave. El estudio contó con la aprobación ética de la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal (PI20/21NE). Los dos módulos alojaron 52 hembras reproductoras y 8 machos en jaulas individuales, con iluminación artificial (16 horas de luz al día), con calefacción y paneles humidificadores y ventilación forzada. Se utilizó un manejo individual con monta natural, cubriendo a las conejas a los 11 días post-parto, con repetición a los dos días posteriores en caso de montas negativas. Las hembras cuya palpación o parto resultaban negativos (o que parían gazapos muertos), se cubrieron inmediatamente.

Se empleó el producto comercial SecureRabbit®, colocándose sobre las jaulas un bote de 250 g ubicado en el centro del módulo, y reemplazándose aproximadamente cada 6 semanas. El estudio se realizó en dos repeticiones de 126 días (3 ciclos de 42 días), una de ellas en primavera-verano (8 de abril - 12 de agosto) y la otra otoño-invierno (30 de septiembre - 3 de febrero). El uso de las feromonas artificiales en los módulos, se intercambiaron en cada repetición (diseño cruzado). Al inicio del experimento, se seleccionaron las conejas de raza neozelandesa a evaluar en el estudio: 17 conejas de un módulo y 16 conejas del otro módulo, en base al inicio de la fecha de cubrición similar, registrándose los números de sus partos previos.

La reactividad de las conejas se valoró ante la manipulación para la monta, utilizando una escala del 0 al 4, donde 0 indica que la coneja no puede ser manejada y 4 que está calmada (Unwin *et al.*, 2020). Cuando una hembra no aceptaba a un macho (tras esperar unos 3 minutos), se ubicaba en la jaula de otro macho. Si no aceptaba a ambos machos, se consideraba una cubrición negativa, mientras que se consideraba una cubrición positiva cuando aceptaba la monta del primer o segundo macho que se le presentaba. La gestación se determinó mediante palpación abdominal 11 días después de la cubrición positiva.

Se registraron los partos positivos y negativos, así como las fechas, para determinar la duración del ciclo (días entre partos). Se contabilizaron los gazapos nacidos vivos y totales, y los destetados por parto. La cantidad de pelo en el nido se valoró utilizando una escala del 0 al 3, donde 0 significaba ausencia de pelo y 3 indicaba una gran cantidad, evaluándose desde el mismo día del parto hasta los 4 días posteriores.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando pruebas de Chi-cuadrado para variables categóricas y ANOVA para variables continuas, realizando un post hoc de Tukey HSD para los grupos de partos con el fin de evaluar las diferencias entre ellos. Se utilizó el programa informático IBM SPSS Statistics (versión 26.0).

Resultados y discusión

Se observó una menor proporción de conejas altamente reactivas en los módulos tratados con FAS (**Tabla 1**). Este hallazgo es consistente con un estudio previo realizado en granjas francesas que señala que las feromonas apaciguadoras pueden facilitar el manejo de las conejas según la opinión de los cunicultores, quienes indicaban que los animales parecían más tranquilos después de la implementación del producto y tras labores estresantes como la limpieza, manipulación de nidos e introducción de personal externo en las granjas (Bouvier y Jacquinet, 2008). Sin embargo, en nuestro experimento el efecto del número de partos fue más importante que el uso de feromonas (**Tabla 1**), siendo más reactivas las conejas nulíparas y disminuyendo a medida que el número de partos aumentaba, quizás por habituación al manejo.

Tabla 1. Efecto de feromonas apaciguadoras sintéticas (FAS), época del año (primavera-verano, otoño-invierno) y número de partos sobre la reactividad, cantidad de pelo en el nido y parámetros productivos de conejas reproductoras en monta natural.

	FAS		P FAS	P época del año	P número de partos
	NO	SI			
Reactividad (%) ¹	0-1: 11,9 2: 18,3 3-4: 69,8	0-1: 5,0 2: 25,0 3-4: 70,0	*	ns	***
Pelo en nido (%) ²	0-1: 21,3 2-3: 78,7	0-1: 5,9 2-3: 94,1	*	ns	ns
Receptividad ³ %	53,6	55,6	ns	ns	***
Tasa de gestación ⁴ %	76,4	75,0	ns	ns	ns
Tasa de fertilidad ⁵ %	68,0	60,2	ns	ns	ns
Duración del ciclo ⁶ d	57,7 ± 2,61	61,5 ± 3,47	ns	*	***
Nacidos totales ⁶	10,1 ± 0,44	8,8 ± 0,56	ns	ns	ns
Nacidos vivos ⁶	9,3 ± 0,43	8,2 ± 0,55	ns	ns	ns
Gazapos destetados ⁶	8,5 ± 0,39	7,4 ± 0,45	ns	ns	***

1 0-1: no puede ser manejada - muerde/araña/patea, lucha intensa; 2: inmóvil, lucha media; 3-4: tensa, sin lucha - calmada. ² 0-1: nada - poco pelo; 2-3: cantidad media - mucha cantidad de pelo. ³ Porcentaje de montas positivas/presentaciones al macho. ⁴ Porcentaje de hembras gestantes/hembras cubiertas. ⁵ Porcentaje de partos/hembras cubiertas. ⁶ Medias marginales ± error estándar. ns: P>0,05, *: P≤0,05, ***: P≤0,001.

Con el uso de FAS, en un 94% de partos (n=51) la cantidad de pelo en el nido fue media o alta, mientras que esta cantidad se observó en un 79% de partos de los módulos control (n=47). Además de permitir una mayor temperatura en el nido, el pelo también aporta feromona apaciguadora natural, lo que puede ayudar aún más en la supervivencia y disminuir el estrés de los gazapos lactantes (Pageat, 2004; González-Redondo *et al.*, 2015). Además, podría estar relacionado también con un mejor comportamiento maternal general (menor canibalismo, partos fuera del nido, etc.). Por otro lado, se ha demostrado que con temperaturas ambientales más altas la cantidad de pelo en nido se reduce (Canali *et al.*, 1991), pero en el presente estudio no se observó un efecto significativo en los periodos evaluados.

En los parámetros productivos analizados no se encontró un efecto significativo por el uso de FAS ni tampoco en su interacción con alguno de los otros factores estudiados (época del año y número de partos). En cuanto a la receptividad, tampoco se observaron cambios estadísticamente significativos entre los periodos estudiados, aunque sí se detectó un efecto asociado al número de partos de las conejas (Tabla 1). La tasa de receptividad promedio fue del 54,6%. Estos valores son inferiores a los reportados en otro estudio con monta natural, donde la receptividad a los 11 días posparto superó el 86 % (Nicodemus *et al.*, 2002), posiblemente como consecuencia de que en la granja experimental algunas conejas presentan un número de partos y una edad elevados, algo poco habitual, ya que los criterios de descarte por productividad suelen ser más estrictos, además de otras diferencias como el pienso y la genética. De hecho, en conejas con cinco o menos partos, se observó una receptividad del 75,6%, mientras que la receptividad fue del 40,8% en aquellas con seis o más partos.

Respecto al número de conejas receptivas gestantes y que han parido, no se han observado diferencias significativas por el uso de FAS ni por la época del año ni por el número de partos de las conejas. Estos resultados no concuerdan con el estudio realizado por Bouvier y Jacquinet (2008) que muestra cómo la fertilidad sin feromona en datos recogidos de ciclos previos fue del 75,3% mientras que, con la presencia de la feromona, ésta alcanzó un 78% (n=>8000 inseminaciones de 9 granjas). De manera global en todas las conejas consi-

deradas en el presente estudio, la fertilidad fue de 64,1% (sobre 206 cubriciones efectivas), dato más bajo al encontrado en una granja comercial con alto porcentaje de hembras longevas (75,5%, López et al., 2022).

No se ha observado un efecto significativo por el uso de la feromona sintética en la duración del ciclo reproductivo, obteniéndose un promedio de 59,7 días. Este valor es superior al reportado por Nicodemus et al. (2002) en conejas con monta natural y ciclo reproductivo de 42 días (44,2 días). El factor época del año mostró diferencias significativas: durante la primavera-verano, el ciclo fue ligeramente más corto (56,5 días) en comparación con el periodo de otoño-invierno (63,1 días). Asimismo, el número de partos tuvo un efecto significativo, observándose diferencias en las conejas con más de 20 partos, que alcanzaron un promedio de 78,4 días. Sin embargo, en un estudio realizado en una granja con luz y monta natural y ciclo extensivo, no se encontró relación entre el intervalo entre partos, la estación del año ni el orden de parto (Dalle Zotte y Paci, 2013).

Tampoco se ha observado una influencia estadísticamente significativa del uso de FAS en el número de gazapos nacidos totales, vivos y destetados por parto (**Tabla 1**) en un total de 132 partos (70 sin y 62 con FAS). Estos resultados contrastan con los de Bouvier y Jacquinet (2008), quienes reportaron un aumento en el número de gazapos vivos de 8,80 a 9,30 con el uso de FAS, y con Pageat (2004), que observó un mayor número de gazapos destetados. En la granja experimental, las conejas de primer parto destetaron en promedio 9,5 gazapos, mientras que las con más de 20 partos destetaron solo 4,8, reflejando la influencia del número de partos en este parámetro. Las distintas épocas del año evaluadas no afectaron la prolificidad, posiblemente debido a un adecuado control ambiental.

Este estudio experimental preliminar sugiere que el uso de la feromona apaciguadora comercial podría facilitar el manejo de las conejas reproductoras y mejorar ciertos aspectos del comportamiento maternal, como la mayor presencia de pelo en el nido. Sin embargo, estos efectos no se tradujeron en mejoras significativas en los resultados productivos de maternidad en la población utilizada.

Agradecimientos: al Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza y a SIB-PMA S.L. por el suministro de Securerabbit®.

Bibliografía

- Bouvier AC, Jacquinet C. 2008. Pheromone in rabbits: preliminary technical results on farm use in France. En: 9th World Rabbit Congress. Verona, Italia, pp. 303-307.
- Canali E, Ferrante V, Todeschini R, Verga M, Carenzi C. 1991. Rabbit nest construction and its relationship with litter development. *Appl Anim Behav Sci* 31:259-266.
- Dalle Zotte A, Paci C. 2013. Influence of rabbit sire genetic origin, season of birth and parity order on doe and litter performance in an organic production system. *Asian-Aust J Anim Sci* 26, 43-49.
- DiVincenti LJ, Rehrig A. 2016. The Social Nature of European Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 55:729-736.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). 2020. Health and welfare of rabbits farmed in different production systems. *EFSA J* 18: e05944.
- González Redondo P, González Mariscal G, López M, Fernández Carmona J, Finzi A, Villagrà A. 2015. Comportamiento materno y bienestar de la coneja doméstica y silvestre y su camada. *ITEA* 111(4):326-347.
- López M, Campo MM, Olleta JL, Campanales M, Resconi VC. 2022. Renovación de grupos completos de reproductoras y utilización de multíparas como reposición ocasional. Resultados reproductivos y de mortalidad. En: 46 Symposium de Cunicultura de ASESCU. Pineda del Mar, España, pp. 85-89.
- Nicodemus, N., Gutiérrez, I., García, J., Carabaño, R., De Blas, C. 2002. Efecto del ritmo reproductivo y de la edad del destete sobre los rendimientos de conejas reproductoras. En: XXVII Symposium de Cunicultura de ASESCU. Madrid, España, pp. 75-82.
- Pageat P, Gaultier E. 2003. Current research in canine and feline pheromones. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33:187-211.
- Pageat P. 2004. Nesting in rabbits: Function of the nest in the development of juvenile rabbits. En: 10th European Congress on Companion Animal Behaviour Medicine. Cremona, Italia, pp. 28-31.
- Rödel HG, Starkloff A, Seltmann MW, Prager G, von Holst D. 2009. Causes and predictors of nest mortality in a European rabbit population. *Mamm Biol* 74:198-209.
- Unwin SL, Saunders RA, Blackwell EJ, Rooney NJ. 2020. A double-blind, placebo-controlled trial investigating the value of Pet Remedy in ameliorating fear of handling of companion rabbits. *J Vet Behav* 36:54-64.

Biomarcadores del estrés por calor en dos líneas genéticas con diferente longevidad

Biomarkers of heat stress in two genetic lines with different longevity

Biada I^a, Ibáñez-Escriche N¹, Serrano D², García ML², Argente MJ², Santacreu MA¹

¹Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, 46022, València, España.

² Instituto de Investigación e Innovación Agroalimentario y Agroambiental, Universidad Miguel Hernández de Elche, 03202, Orihuela, España.

*ibiada@posgrado.upv.es

Resumen:

El estrés térmico representa un desafío para la producción cunícola y afecta a la longevidad y producción de los animales. En este estudio se comparó la temperatura ocular, y los niveles plasmáticos de la proteína C reactiva (CRP), el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y la corticosterona entre dos líneas maternas altamente productivas con diferente longevidad (A y LP) bajo condiciones de estrés y confort térmico. Los resultados mostraron que la temperatura ocular fue consistentemente más alta en la línea A en comparación con la línea LP, que es la más longeva ($P_0 = 100\%$ probabilidad de que la diferencia sea mayor o menor a 0), lo que sugiere una mayor sensibilidad de la línea A a factores externos que afectan a su regulación térmica. En cuanto a los biomarcadores inflamatorios, los niveles de TNF- α fueron similares entre líneas ($P_0 = 59\%$), mientras que la CRP fue mayor en la línea A ($P_0 = 100\%$), lo que indica un estado inflamatorio más alto en la línea A, línea de longevidad estándar. Sin embargo, la corticosterona fue mayor en la línea LP, aunque la diferencia entre líneas (0,08 $\mu\text{g/ml}$) fue moderada. En cuanto a las diferencias entre las condiciones térmicas, en ambas líneas el estrés térmico aumentó la temperatura ocular y la corticosterona, mientras que el nivel de TNF- α disminuyó. En el caso de la CRP, se incrementó únicamente en la línea LP bajo estrés térmico, aunque sus valores se mantuvieron por debajo de los de la línea A, que mostró un nivel de inflamación más elevado en ambas condiciones térmicas. Estos resultados sugieren que la línea LP, con mayor longevidad, podría tener una mejor capacidad de adaptación al estrés ambiental, con una regulación térmica e inflamatoria más eficiente.

Palabras clave: estrés térmico, resiliencia, temperatura ocular, corticosterona, inflamación.

Abstract

Heat stress poses a significant challenge to rabbit production, affecting animal resilience and longevity. This study compared ocular temperature, plasma levels of C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), and corticosterone levels between two highly productive maternal lines with different longevity (A and LP) under heat stress and thermoneutral conditions. Comparing differences between the two lines, the results showed that ocular temperature was consistently higher in line A than in line LP ($P_0 = 100\%$, probability that the difference is greater or less than 0), suggesting lower heat dissipation efficiency in line A. Concerning inflammatory biomarkers, TNF- α levels were similar between lines ($P_0 = 59\%$), whereas CRP was higher in line A ($P_0 = 100\%$), indicating a higher basal inflammatory state in the standard longevity line A. Corticosterone was higher in line LP, the quantified difference (0,08 $\mu\text{g/ml}$) was moderate and does not necessarily reflect chronic detrimental stress. Concerning differences between thermal conditions, heat stress increased ocular temperature and corticosterone in both lines, while TNF- α decreased. Interestingly, CRP increased only in line LP under heat stress, although its overall values remained below those of the A line, which showed higher systemic inflammation in both conditions. These findings suggest that the high longevity line LP may have a superior capacity to adapt to environmental stress, with more efficient thermal and inflammatory regulation.

Keywords: heat stress, resilience, ocular temperature, corticosterone, inflammation.

Introducción

Actualmente, los cunicultores demandan no solo animales altamente productivos, sino también animales más longevos y resilientes que hagan frente a los desafíos ambientales, como el aumento de las temperaturas debido al cambio climático. El estrés por calor es uno de los estresores ambientales más importantes en los conejos (Ebeid *et al.*, 2023) y es particularmente prevalente en las regiones mediterráneas, donde se concentra la cunicultura. La alta sensibilidad de los conejos al estrés por calor (Marai *et al.*, 2002) tiene un efecto negativo tanto sobre los caracteres reproductivos (Ebeid *et al.*, 2023) como los de crecimiento (Zeferino *et al.*, 2013). Se han propuesto diferentes biomarcadores asociados al estrés como una forma indirecta de estimar la adaptación de los animales al entorno y minimizar el impacto de los factores estresantes. La temperatura corporal, las proteínas de fase aguda y las hormonas del estrés se han utilizado como biomarcadores debido a su papel en los procesos biológicos que subyacen a la resiliencia (Argente *et al.*, 2019; Beloumi *et al.*, 2020; Ebeid *et al.*, 2023). Este trabajo tiene como objetivo comparar la respuesta al estrés térmico en dos líneas maternas altamente productivas con diferente longevidad midiendo la temperatura corporal y los niveles de la proteína C-reactiva (CRP), el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-alfa) y la corticosterona.

Material y métodos

En este experimento se utilizaron un total de 223 hembras núlparas de dos líneas maternas comercialmente productivas con diferente longevidad (A y LP). Los datos se recogieron en dos periodos según los valores del índice de temperatura-humedad (THI): periodo de estrés térmico/verano (THI: $25,7 \pm 1,2$) y periodo de confort térmico/invierno (THI: $17,5 \pm 1,7$). El conjunto de datos comprendía 99 hembras de la línea A (46 en estrés térmico y 53 en confort térmico) y 124 hembras de la línea LP (55 en estrés térmico y 69 en confort térmico). La línea A tiene una longevidad estándar, mientras que la línea LP tiene una mayor longevidad. La línea LP se fundó utilizando criterios de longevidad y productividad, concretamente a partir de hembras con un número medio de 30 partos, que es seis veces superior a la longevidad media (Sánchez *et al.*, 2008). Las hembras fueron alojadas en la granja de la Universitat Politècnica de València (España) en jaulas individuales (flat-deck) con una caja nido extraíble con plástico aislante, y bajo un fotoperiodo de 16-h luz: 8-h oscuridad. El acceso al alimento fue ad libitum durante todo el periodo experimental con la misma dieta comercial estándar para todos los animales.

La mañana después del primer parto, se tomó la temperatura de todas las hembras mediante termografía infrarroja del globo ocular con un termógrafo «Testo Irsoft» y se procesó con el software Irsoft versión 1,7. Se tomaron dos medidas termográficas sucesivas de cada coneja, manteniendo la misma distancia y las mismas condiciones. Se calculó la temperatura máxima media del globo ocular de ambas mediciones. Si las diferencias entre ambas medidas eran superiores a $0,5^{\circ}\text{C}$ la medida se descartaba del análisis. A continuación, se recogieron muestras de sangre de la vena auricular marginal en un tubo con ácido etilendiaminotetraacético tripotásico (K3-EDTA). Las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 minutos para obtener plasma, que se almacenó a -80°C para su posterior análisis. Las concentraciones de proteína C reactiva (CRP), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y corticosterona se midieron utilizando kits ELISA específicos para conejos. Los datos se analizaron mediante el siguiente modelo:

$$y_{ijk} = \mu + \mu L_i + \beta_1 \text{THI}_{ijk} + \beta_2 (L_i * \text{THI})_{ijk} + \beta_3 \text{NT}_{ijk} + e_{ijk}$$

donde y_{ijk} representa la variable observada, μ es la media general, L_i es el efecto de la línea genética con dos niveles (línea A y LP), THI_{ij} es la covariable del índice de temperatura y humedad, $L_i * \text{THI}_{ij}$ es el término de interacción entre la línea genética y el índice de temperatura y humedad, NT_{ik} es la covariable del número total de nacidos y e_{ijk} es el término de error residual. El modelo se analizó con el paquete brms de R.

Resultados y discusión

Los resultados revelaron diferencias entre las dos líneas maternas para varios de los biomarcadores evaluados. En primer lugar, la temperatura ocular fue mayor en la línea A en comparación con la línea LP con un 100% de probabilidad (Tabla 1). Esto sugiere que la línea A es menos eficiente en la regulación de la temperatura corporal frente a factores externos estresantes, mientras que la línea LP mantiene temperaturas corporales más bajas frente al calor y el posparto. Es importante señalar que la línea LP ha mostrado sistemáticamente una mayor longevidad y se espera que sea más resiliente que la línea A (El Nagar *et al.*, 2021).

En cuanto a la corticosterona, se observaron concentraciones más altas en la línea LP en comparación con la línea A, con un 97% de probabilidad (**Tabla 1**). Esta diferencia se cuantificó en $0,08 \pm 0,03$ ng/ml, un valor moderado que refleja un nivel ligeramente mayor de activación del eje del estrés, lo que no necesariamente implica un mayor estrés crónico en la línea LP en comparación a la línea A. De acuerdo con estos resultados, estudios previos señalan que concentraciones moderadamente elevadas de corticosterona, aunque asociadas a un mayor estrés, también se vinculan con una mayor probabilidad de supervivencia, lo que sugiere un posible papel de esta hormona en la capacidad de adaptación de la línea LP a situaciones adversas que apoyarían la mayor longevidad y resiliencia de esta línea (Cabezas *et al.*, 2007).

Tabla 1. Parámetros de la distribución marginal posterior de la diferencia estimada entre las líneas genéticas (A y LP) para la temperatura ocular y biomarcadores fisiológicos.

	A	LP	DLP - A	HPD95	P0 (%)
Temperatura (°C)	$36,54 \pm 0,06$	$36,19 \pm 0,06$	-0,35	[-0,51: -0,18]	100
Corticosterona (ng/ml)	$0,91 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,03$	0,08	[-0,003: 0,17]	97
TNF- α (pg/ml)	$65,4 \pm 5,0$	$64,0 \pm 4,5$	-1,5	[-14,9: 11,8]	59
CRP (μ g/ml)	$28,3 \pm 2,1$	$16,0 \pm 1,8$	-12,3	[-17,9: -6,9]	100

HPD95: región de mayor densidad posterior al 95%. P0: Probabilidad de diferencia positiva > 0 o negativa < 0.
TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF-alfa). CRP: Proteína C-Reactiva.

En cuanto a los biomarcadores inflamatorios, los niveles de TNF- α fueron similares entre ambas líneas (P0 = 59%). En contraste, la CRP fue mayor en la línea A ($28,3 \pm 2,1$ μ g/ml) que en la LP ($16,0 \pm 1,8$ μ g/ml) con un 100% de probabilidad. Estas altas diferencias (12,3 μ g/ml) sugieren que la línea A mantiene un estado inflamatorio basal más alto. Estudios previos han asociado niveles elevados de CRP con mayor sensibilidad a enfermedades (McDade *et al.*, 2015) y a una menor resiliencia (Argente *et al.*, 2019).

El efecto del estrés térmico se evaluó analizando la relación entre los biomarcadores estudiados y el índice de temperatura-humedad (THI) (**Tabla 2**). La temperatura ocular aumentó con el incremento del THI en ambas líneas genéticas. En condiciones térmicas de confort (THI = 17,5), la temperatura media estimada del globo ocular fue de 35,43 °C, mientras que durante el estrés térmico (THI = 26) aumentó a 37,43 °C (resultados no mostrados en tabla), en concordancia con estudios previos (Ludwig *et al.*, 2007; de Lima *et al.*, 2013). La línea LP mostró una mayor pendiente de regresión entre el índice THI y la temperatura ocular ($1,16 \pm 0,06$) que la línea A ($0,88 \pm 0,06$), con una diferencia de 0,28 (P0 = 100%). Sin embargo, pese a esta diferencia, la temperatura ocular de la línea LP, tanto en condiciones basales como bajo estrés térmico, se mantuvo siempre por debajo de la temperatura ocular de la línea A. Por tanto, la línea LP, que es la línea con mayor longevidad, mantiene valores de temperatura ocular más bajos en ambas condiciones térmicas, confort y calor, lo que indicaría una mejor eficiencia en la regulación térmica.

Tabla 2. Parámetros de la distribución marginal posterior de la respuesta al índice de temperatura-humedad (THI) para la temperatura ocular y biomarcadores fisiológicos en líneas genéticas (A y LP).

	A	LP	DLP - A	HPD95	P0 (%)
Temperatura (°C)	$36,54 \pm 0,06$	$36,19 \pm 0,06$	-0,35	[-0,51: -0,18]	100
Corticosterona (ng/ml)	$0,91 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,03$	0,08	[-0,003: 0,17]	97
TNF- α (pg/ml)	$65,4 \pm 5,0$	$64,0 \pm 4,5$	-1,5	[-14,9: 11,8]	59
CRP (μ g/ml)	$28,3 \pm 2,1$	$16,0 \pm 1,8$	-12,3	[-17,9: -6,9]	100

$\beta_A(\text{THI}_A)$: pendiente de regresión de la línea A con respecto al THI; $\beta_{LP}(\text{THI}_{LP})$: pendiente de regresión de la línea LP con respecto al THI; $D_{\text{THI}(LP-A)}$: diferencia de pendientes entre β_{LP} y β_A . HPD95: región de mayor densidad posterior al 95%. P0: probabilidad de diferencia positiva > 0 o negativa < 0. THI: índice de temperatura y humedad. TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral-alfa. CRP: Proteína C-Reactiva.

Por otro lado, la corticosterona aumentó con el índice THI en ambas líneas y no se encontraron diferencias entre las pendientes de las dos líneas para la relación entre la corticosterona y el índice THI (70% de probabilidad). Otros estudios en conejos que han analizado las hormonas glucocorticoides han reportado resultados similares, evidenciando un aumento significativo de estas hormonas durante el estrés térmico (Abdel-Latif *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022). Esto sugiere que la corticosterona puede ser un útil marcador de la respuesta al estrés por calor en conejo.

En cuanto a los biomarcadores inflamatorios, los niveles de TNF- α mostraron una tendencia a disminuir con el estrés térmico en ambas líneas A ($-15,5 \pm 4,8$) y LP ($-11,4 \pm 4,6$), sin diferencias entre las pendientes de las líneas estudiadas (P0 = 74%). Estos resultados indican unos menores niveles de TNF- α en condiciones de estrés térmico que, en condiciones de confort térmico, lo que está en desacuerdo con lo esperado y lo

publicado en otros estudios (Ebeid *et al.*, 2023; Abdel-Latif *et al.*, 2018). Se desconocen las razones que pueden haber llevado a estos resultados y sería adecuado una investigación más detallada del efecto del estrés térmico en los niveles de TNF- α en estas líneas.

Finalmente, las líneas mostraron una respuesta diferente al estrés térmico en los niveles de CRP con un 90% de probabilidad. En la línea A, los valores permanecieron altos y estables tanto en confort térmico como bajo estrés, lo que sugiere una inflamación sistémica crónica (resultados no mostrados en tabla). La línea LP presentó siempre menores valores de CRP que la línea A y a diferencia de la línea A mostró un incremento con el calor ($2,4 \pm 1,9$, Tabla 2). El patrón observado en la línea LP, que combina un bajo nivel basal con una respuesta marcada ante el desafío, coincide con hallazgos anteriores que asocian dicha dinámica a una mejor funcionalidad inflamatoria y menor riesgo de enfermedad (McDade *et al.*, 2015), apoyando la idea de que la línea LP, con mayor longevidad, presenta menor riesgo de inflamación crónica y mayor resiliencia.

En conclusión, los resultados indican que la línea LP, caracterizada por su mayor longevidad, mostró una mejor regulación térmica, con temperaturas corporales más bajas frente al aumento del THI, lo que sugiere una mayor eficiencia en la regulación del calor. Además, la línea LP mostró una menor respuesta inflamatoria que la línea A, con un menor nivel de CRP, lo que podría estar asociado con una mayor capacidad de adaptación al estrés ambiental. Estos resultados refuerzan la idea de que hay diferencias entre líneas en su capacidad para enfrentarse a condiciones adversas como es por ejemplo el estrés térmico.

Agradecimientos: este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y contó con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea Next GenerationEU (PRTR-C17.I1) y de la Generalitat Valenciana (AGROAL-NEXT 2022/037). A la Generalitat Valenciana por la beca CIACIF/2021/005, y a Tamara Romero Rueda y Rafael Torres Lozano por su apoyo en la recolección de muestras y manejo de animales.

Bibliografía

- Abdel-Latif M, Sakran T, Badawi YK, Abdel-Hady DS. 2018. Influence of *Moringa oleifera* extract, vitamin C, and sodium bicarbonate on heat stress-induced HSP70 expression and cellular immune response in rabbits. *Cell Stress Chaperones* 23:975–984.
- Argente MJ, García ML, Zbyňovská K, Petruška P, Capcarová M, Blasco A. 2019. Correlated response to selection for litter size environmental variability in rabbits' resilience. *Animal* 13:2348–2355.
- Beloumi D, Blasco A, Muelas R, Santacreu MA, García MDL, Argente MJ. 2020. Inflammatory Correlated Response in Two Lines of Rabbit Selected Divergently for Litter Size Environmental Variability. *Animals* 10:1540. doi:10.3390/ani10091540.
- Cabezas S, Blas J, Marchant TA, Moreno S. 2007. Physiological stress levels predict survival probabilities in wild rabbits. *Horm Behav* 51:313–320.
- Ebeid TA, Aljabeili HS, Al-Homidan IH, Volek Z, Barakat H. 2023. Ramifications of Heat Stress on Rabbit Production and Role of Nutraceuticals in Alleviating Its Negative Impacts: An Updated Review. *Antioxid* 12:1407.
- El Nagar AG, Baselga M, Mínguez C, Santacreu MA, Sánchez JP. 2021. Functional longevity in five rabbit lines founded on different criteria: Comparison at foundation and at fixed times after selection. *J. Anim Breed Genet* 138:508–517.
- de Lima V, Piles M, Rafel O, López-Béjar M, Ramón J, Velarde A, *et al.* 2013. Use of infrared thermography to assess the influence of high environmental temperature on rabbits. *Res Vet Sci* 95(2): 802–810.
- Liu H, Zhang B, Fan Li, Liu L, Yang T, Zhang H, Fuchang Li. 2022. Effects of heat stress on growth performance, carcass traits, serum metabolism, and intestinal microflora of meat rabbits. *Front Microbiol* 13:998095.
- Ludwig N, Gargano M, Luzi F, Carenzi C, Verga M. 2007. Technical note: Applicability of infrared thermography as a non invasive measurement of stress in rabbit. *World Rabbit Sci* 15:199–205.
- Marai IFM, Habeeb AAM, Gad AE. 2002. Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest Prod Sci* 78:71–90.
- McDade TW, Borja JB, Kuzawa CW, Perez TLL, Adair LS. 2015. C-reactive protein response to influenza vaccination as a model of mild inflammatory stimulation in the Philippines. *Vaccine* 33:2004–2008.
- Sánchez JP, Theilgaard P, Mínguez C, Baselga M. 2008. Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line. *J Anim Sci* 86:515–525.
- Zeferino CP, Komiyama CM, Fernandes S, Sartori JR, Teixeira PS, Moura AS. 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7:518–523.

Respuesta de la microbiota intestinal al estrés térmico en dos líneas maternas de conejo con diferente longevidad

Differential response of the gut microbiome to heat stress in two maternal lines of rabbits with different longevity

Biada I^a, Ibáñez-Escriche N¹, García ML², Argente MJ², Santacreu MA¹

¹Institute for Animal Science and Technology, Universitat Politècnica de València, 46022, València, España.

²Departamento de Tecnología Agroalimentaria, Universidad Miguel Hernández de Elche, 03202, Orihuela, España.

*ibiada@posgrado.upv.es

Resumen

El estrés térmico afecta a la productividad y la salud del ganado, especialmente en conejos, debido a su vulnerabilidad fisiológica. El objetivo es estudiar el efecto del estrés por calor en la microbiota intestinal en dos líneas maternas de conejo con diferentes longevidades (A y LP). Para ello se compara la diversidad microbiana y la capacidad de la microbiota para predecir las líneas genéticas. El estrés térmico influyó en la diversidad de la microbiota intestinal en ambas líneas maternas, aumentando la diversidad alfa e impulsando cambios en la diversidad beta ($p < 0,001$). Esto podría deberse a la alteración de la barrera intestinal, que facilitaría la proliferación de patógenos. La línea de alta longevidad LP mostró una mayor riqueza en condiciones de confort térmico y no se encontraron diferencias entre líneas en condiciones de estrés, posiblemente debido a una mayor proliferación de patógenos en la línea A, que es una línea con una longevidad estándar. La precisión de la predicción y las variables seleccionadas que diferencian las líneas A y LP variaron en función de las condiciones térmicas, con un área bajo la curva (AUC) de 0,92 en condiciones de estrés térmico y 0,87 en confort térmico. Estos resultados indican que la respuesta del microbioma intestinal bajo estrés térmico es diferente entre las líneas. En particular, los taxones potencialmente asociados al estrés, como *Erysipelatoclostridium* y *Monoglobus*, fueron más abundantes en la línea A. Así, el estrés térmico influye significativamente en el microbioma intestinal, induciendo cambios notables en la diversidad y composición bacteriana. Además, estos cambios son diferentes en función de la línea y apoyan la mayor longevidad y resiliencia de la línea LP y la mayor susceptibilidad de la línea A.

Palabras clave: microbiota intestinal, Longevidad, Conejo, Estrés térmico.

Abstract

Heat stress significantly affects livestock productivity and health, particularly in rabbits, due to their physiological vulnerabilities. The objective is to study the relationship between environmental conditions, genetic lines, and gut microbiota. This study investigates the impact of heat stress on the gut microbiome of two maternal rabbit lines: A (standard longevity line) and LP (a robust line founded using longevity criteria). This is carried out by comparing microbial diversity values and testing the classifying ability of microbiota information to predict the genetic lines. Heat stress influenced gut microbiome diversity in both maternal lines, increasing alpha diversity and driving significant beta-diversity shifts ($p < 0.001$). This could be due to intestinal barrier disruption, which may facilitate pathogen proliferation. The high longevity line LP exhibited higher richness under thermal comfort, whereas heat stress equalized these differences between lines, possibly due to increased pathogen proliferation in the low longevity line A. Prediction accuracy and key selected variables distinguishing lines A and LP varied across thermal conditions, with the Area Under the Curve (AUC) exceeding 0.92 under heat stress and 0.87 in thermal comfort. These results reflect distinct gut microbiome regulation between the two lines under heat stress. Notably, potentially stress-associated taxa such as *Erysipelatoclostridium* and *Monoglobus* were more abundant in the less longeval line A. Heat stress significantly influences the gut microbiome of rabbit lines A and LP, inducing notable diversity and compositional changes. These shifts highlight line LP's greater longevity and expected resilience, in contrast to line A's susceptibility, as reflected in differences in diversity and a higher abundance of potential heat stress-associated taxa in line A.

Keywords: gut microbiota, longevity, rabbit, heat stress.

Introducción

El estrés térmico afecta significativamente a la productividad y la salud del ganado, especialmente en el Mediterráneo donde debido al cambio climático están subiendo las temperaturas (Ebeid *et al.*, 2023). Los conejos por su denso pelaje y limitada sudoración son especialmente vulnerables al estrés térmico (Dalmay *et al.*, 2014). El estrés térmico afecta negativamente a los caracteres reproductivos, disminuyendo la fertilidad y el tamaño de la camada (Ebeid *et al.*, 2023). También afecta a los caracteres de crecimiento, como el peso corporal y la tasa de crecimiento (Zeferino *et al.*, 2013). Estos efectos adversos subrayan la importancia de disponer de líneas resilientes al estrés térmico para mejorar la sostenibilidad de la cunicultura en condiciones climáticas cambiantes.

El estrés térmico afecta a la microbiota intestinal, que sabemos que está relacionada con la longevidad y la salud de los conejos (Gerber, 2014). El estrés térmico altera la composición y diversidad microbiana en cerdos, aves y conejos (Bai *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021), causando disbiosis y reduciendo la producción de ácidos grasos de cadena corta, que son fundamentales para la salud intestinal e inmunitaria (Priyadarshini *et al.*, 2018). En situaciones de estrés la integridad de la barrera intestinal se ve comprometida, permitiendo la entrada de sustancias dañinas al organismo, lo que provoca inflamación y enfermedades (He *et al.*, 2021). Además, algunos microorganismos son particularmente sensibles al estrés térmico y podrían utilizarse como biomarcadores para evaluar su impacto en la salud, crecimiento y productividad en conejo (Bai *et al.*, 2021; He *et al.*, 2021).

Este estudio parte de la hipótesis de que el estrés térmico afecta a la composición y diversidad de la microbiota intestinal de forma diferente en función de la línea. Perfiles microbianos distintos indicarían diferencias en los mecanismos fisiológicos y en la regulación de respuesta al estrés térmico entre las líneas genéticas. Por lo tanto, el objetivo es estudiar el efecto de las condiciones térmicas sobre la diversidad y la composición microbiana de dos líneas maternas de conejo con diferente longevidad, la línea A y la línea LP, para identificar posibles biomarcadores y mecanismos de resiliencia al estrés por calor.

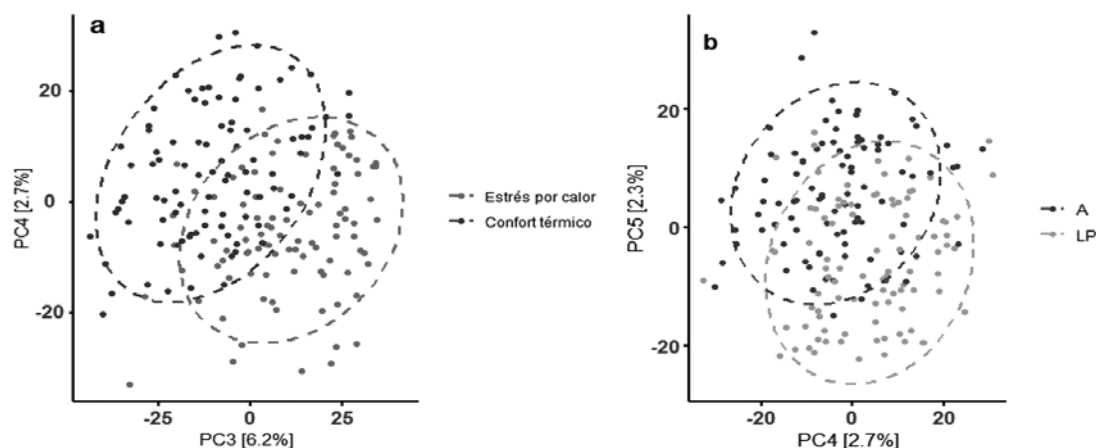
Material y métodos

En este estudio se utilizaron 199 conejas nulíparas de dos líneas maternas comerciales con diferente longevidad, líneas A y LP. Se estudiaron dos condiciones térmicas a partir de los valores del índice de temperatura-humedad (THI): periodo de estrés por calor (THI: $25,7 \pm 1,2$) y periodo de confort térmico (THI: $17,5 \pm 1,7$). La línea A incluyó 98 conejas (47 en estrés térmico y 51 en confort), y la línea LP, 101 conejas (50 en estrés térmico y 51 en confort). La línea LP se fundó con criterios de longevidad y productividad, concretamente a partir de hembras con un número medio de partos de 30 (Sánchez *et al.*, 2008). La línea A es una línea materna comercial de longevidad estándar que se fundó a partir de un muestreo de conejas New Zealand White criadas por granjeros cerca de Valencia, España (Sánchez *et al.*, 2008). Durante la primera semana posparto del primer parto, se recolectaron muestras de heces del ano y se congelaron. El ADN de las heces se extrajo utilizando el kit HigherPurity Stool DNA Isolation. El gen 16S rRNA fue amplificado (regiones V3-V4) y secuenciado en una plataforma Illumina MiSeq. El análisis bioinformático incluyó el filtrado de calidad con fastp, la eliminación de quimeras y el procesamiento con DADA2 para obtener variantes de secuencia de ampliaciones (ASVs). A continuación, se hizo la clasificación taxonómica con la base de datos Silva y el análisis en la plataforma QIIME2. Se calcularon los índices de diversidad alfa (riqueza, índice de Shannon y uniformidad de Pielou) y se analizaron de forma bayesiana con un modelo lineal que incluía los factores de línea genética, condición térmica y la interacción entre ambos. La diversidad beta fue evaluada mediante matrices de disimilitud de Aitchison, análisis de componentes principales (PCA) y pruebas PERMANOVA para determinar los efectos de los factores línea genética y condición térmica en la composición microbiana.

Se utilizaron los modelos Random Forest, BayesC y Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) para predecir las líneas genéticas maternas (A y LP) en diferentes condiciones ambientales. Se utilizaron dos subconjuntos de datos, el subconjunto 1 incluía muestras únicamente del periodo de estrés térmico (97 muestras) y el subconjunto 2 con muestras del periodo de confort térmico (102 muestras). Para la clasificación de las líneas en base al microbioma se siguió el procedimiento propuesto por Topçuoğlu *et al.* (2020) con algunas modificaciones. Los datos se dividieron en un 50 % para entrenamiento y un 50 % para evaluación, manteniendo la distribución de clases. Se aplicó una validación cruzada quintuple que se repitió 100 veces para ajustar los hiperparámetros. Luego, el modelo se entrenó con el conjunto de entrenamiento completo y se

evaluaron en el conjunto de evaluación prueba. Este proceso se repitió 100 veces para reducir el sesgo de las divisiones aleatorias. El rendimiento del modelo se evaluó mediante el área bajo la curva ROC (AUC).

Figura 1. a. Visualización de los componentes principales tercero y cuarto (PC3 y PC4) que representan la disimilitud entre muestras (basada en la distancia de Aitchison), con muestras coloreadas por condición térmica. b. Visualización de los componentes principales cuarto y quinto (PC4 y PC5) con muestras coloreadas por línea.



Resultados y discusión

En cuanto a la diversidad alfa (diversidad dentro de las muestras), la línea LP, que es la más longeva, mostró mayor diversidad que la línea A para los tres índices analizados. Las diferencias fueron relevantes para los índices Shannon y riqueza observada (probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero $\geq 80\%$ y diferencia media en unidades de desviación estándar $> 1/3$). Respecto al efecto de la condición térmica, la diversidad alfa aumentó durante el periodo de estrés por calor en comparación con el periodo de confort térmico, las diferencias fueron relevantes para todos los índices. En condiciones de confort térmico, la línea LP presentó mayor riqueza del microbioma que la línea A, pero en condiciones de estrés térmico, no se encontraron diferencias relevantes entre líneas para ninguno de los tres índices de diversidad alfa. Para la diversidad beta, los análisis PERMANOVA revelaron que la condición térmica explicaba el mayor porcentaje de disimilitud total (2,3%, $p = 0,000$), seguida del efecto de la línea (1,7%, $p = 0,000$) y la interacción (0,8%, $p = 0,001$). El análisis PCA mostró una separación de comunidades bacterianas en función de la condición térmica en los componentes tercero y cuarto (9% de la varianza total) y según la línea en los componentes cuarto y quinto (5% de la varianza total).

Los resultados de diversidad indicaron un importante efecto del estrés por calor en líneas maternas de conejos. El estrés térmico aumentó la diversidad alfa en ambas líneas y provocó cambios en la diversidad beta, probablemente debido a la disrupción de la barrera intestinal, lo que podría facilitar la proliferación de patógenos (He *et al.*, 2021). La línea más longeva y robusta, línea LP, mostró mayor riqueza del microbioma bajo confort térmico pero las diferencias de diversidad entre líneas se redujeron bajo condiciones de estrés por calor. Estos resultados podrían deberse a una mayor proliferación de patógenos en la línea A que es la menos longeva.

En los tres modelos (PLS-DA, BayesC y Random Forest), la predicción de la línea basada en los datos del microbioma fue más eficaz bajo condiciones de estrés térmico, con un AUC medio de $0,96 \pm 0,03$ en comparación con un AUC medio de $0,91 \pm 0,06$ en condiciones de confort térmico. Esto sugiere que el microbioma de las dos líneas de conejos difiere más en condiciones de estrés térmico. El estudio de las variables con mayor poder de discriminación confirmó este patrón, revelando que los taxones clave para predecir las líneas eran diferentes dependiendo de las condiciones térmicas, y que la mayoría de las variables importantes eran exclusivas del estrés térmico o del confort térmico, con poco solapamiento entre las dos condiciones térmicas. En concreto, los taxones asociados con variaciones en el estrés térmico incluían los géneros *Erysipelatoclostridium* y *Monoglobus*, así como la familia *Lachnospiraceae*, los cuales eran más abundantes en la línea de menor longevidad (A). En contraste, todos los ASV más abundantes en la línea de mayor longevidad (LP) pertenecían exclusivamente a la familia *Eubacteriaceae*. Los géneros de *Erysipelatoclostridium* están relacionados con niveles elevados de cortisol, respuesta al estrés y trastornos metabólicos (Kaakoush, 2015). De *Monoglobus* se sabe que favorece la salud inmunitaria, pero puede aumentar

el amoníaco en sangre, comprometiendo la integridad intestinal y favoreciendo la inflamación (Sakurai et al., 2022). El conjunto de resultados indica una respuesta de la microbiota al estrés por calor y pone de manifiesto diferencias en la respuesta y adaptación al estrés de las dos líneas maternas estudiadas.

En conclusión, el estrés térmico altera la diversidad del microbioma intestinal en líneas maternas de conejos, aumentando la diversidad alfa y cambiando la diversidad beta posiblemente debido a la alteración de la barrera intestinal. La línea A mostró un mayor aumento de la diversidad alfa, lo que podría sugerir una posible mayor proliferación de patógenos. Los resultados de los modelos predictivos indican además que el microbioma de las dos líneas de conejos respondió de forma diferente a las condiciones térmicas, siendo la predicción de la predicción mayor durante el estrés térmico. En particular, los taxones potencialmente asociados al estrés térmico, como *Erysipelatoclostridium* y *Monoglobus*, fueron más abundantes en la línea menos longeva A, lo que sugiere respuestas reguladas por el microbioma específicas de cada línea al estrés ambiental.

Agradecimientos: Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y contó con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea Next Generation EU (PRTR-C17.11), de la Generalitat Valenciana (AGROALNEXT 2022/037) y la Generalitat Valenciana por la beca CIACIF/2021/005. A Tamara Romero Rueda y Rafael Torres Lozano por su apoyo en la recolección de muestras y manejo de animales.

Bibliografía

- Bai X, Shi Y, Tang L, Chen L, Fan H, Wang J, et al. 2021. Heat Stress Affects Faecal Microbial and Metabolic Alterations of Rabbits. *Front Microbiol* 12:817615.
- Dalmau A, Catanese B, Rafel O, Rodriguez P, Fuentes C, Llonch P, et al. 2014. Effect of high temperatures on breeding rabbit behaviour. *Anim Prod Sci* 55:1207-1214.
- Ebeid TA, Aljabeili HS, Al-Homidan IH, Volek Z, Barakat H. 2023. Ramifications of Heat Stress on Rabbit Production and Role of Nutraceuticals in Alleviating Its Negative Impacts: An Updated Review. *Antioxid* 12:1407.
- Gerber GK. 2014. The dynamic microbiome. *FEBS Lett*. 588:4131-4139.
- Kaakoush NO. 2015. Insights into the Role of Erysipelotrichaceae in the Human Host. *Front Cell Infect Microbiol* 5.
- He Y, Maltecca C, Tiezzi F. 2021. Potential Use of Gut Microbiota Composition as a Biomarker of Heat Stress in Monogastric Species: A Review. *Animals* 11:1833.
- Priyadarshini M, Kotlo KU, Dudeja PK, Layden BT. 2018. Role of Short Chain Fatty Acid Receptors in Intestinal Physiology and Pathophysiology. *Compr Physiol* 8:1091-1115.
- Sakurai K, Toshimitsu T, Okada E, Anzai S, Shiraishi I, Inamura N, et al. 2022. Effects of Lactiplantibacillus plantarum OLL2712 on Memory Function in Older Adults with Declining Memory: A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Nutrients* 14:4300.
- Sánchez JP, Theilgaard P, Mínguez C, Baselga M. 2008. Constitution and evaluation of a long-lived productive rabbit line. *J Anim Sci* 86:515-525.
- Topçuoğlu BD, Lesniak NA, Ruffin MT, Wiens J, Schloss PD. 2020. A Framework for Effective Application of Machine Learning to Microbiome-Based Classification Problems. *MBio* 11:10.1128/mbio.00434-20.
- Zeferino CP, Komiyama CM, Fernandes S, Sartori JR, Teixeira PS, Moura AS. 2013. Carcass and meat quality traits of rabbits under heat stress. *Animal* 7:518-523.

Transición al alojamiento en grupo de conejas en sistemas de producción comercial

Transition to group housing of does in commercial production systems

Manuelian CL^{1*}, Salama AAK¹, Such X¹, Ruiz de la Torre JL², Casas C³, Costa R², Mora FX¹

¹Dept. Ciència Animal i dels Aliments, UAB, 08193 Cerdanyola del Vallès, España.

²Servei de Granges i de Camps Experimentals. UAB, 08193 Cerdanyola del Vallès, España.

³Granja Riera, 8480 L'Atmetlla del Vallès, España.

*carmen.manuelian@uab.cat

Resumen

Este estudio comparó la productividad entre conejas alojadas individualmente y en grupo. Las conejas nulíparas ($4,7 \pm 0,3$ kg) se dividieron en 3 grupos: G1 (8 conejas individualmente), G4 (4 conejas/grupo) y G8 (8 conejas/grupo). Las conejas fueron inseminadas y alojadas individualmente los primeros 18 días. Después, G1 se alojaron en jaulas individuales, mientras G4 y G8 se alojaron en un prototipo de alojamiento grupal de $1,6 \times 1,5 \times 0,6$ m con nidos individuales, bebederos compartidos y una plataforma de alimentación. El peso corporal (PC) de G1 aumentó desde el 1^{er} parto ($4,42 \pm 0,15$ kg/coneja) hasta el final del estudio ($4,91 \pm 0,15$ kg/coneja; $P < 0,001$), la fertilidad del 1^{er} parto fue del 63%, la prolificidad de 10,2 crías/parto y máxima fertilidad en 2^o parto. El PC de G4 disminuyó desde el 1^{er} parto ($4,71 \pm 0,22$ kg/coneja) hasta el final del estudio ($4,28 \pm 0,22$ kg/coneja; $P = 0,018$), la fertilidad del 1^{er} parto fue máxima, la prolificidad de 12,3 crías/parto y la fertilidad en 2^o parto fue nula. Las conejas de G4 tuvieron lesiones leves que sanaron rápidamente con alopecia menor, parieron en nidos separados con todas las crías nacidas vivas en 1^{er} parto. El PC de G8 aumentó desde el 1^{er} parto ($4,41 \pm 0,15$ kg/coneja) hasta el final del estudio ($4,70 \pm 0,15$ kg/coneja; $P < 0,001$), la fertilidad de 1^{er} parto fue 63% y la prolificidad de 10,2 crías/parto, y la fertilidad en 2^o parto fue 12,5%. En el grupo G8, las peleas y lesiones comenzaron antes y fueron más frecuentes y graves que en el G4, y 2 conejas parieron en el mismo nido. El estudio terminó en el segundo parto porque las conejas del grupo G8 necesitaban recuperarse de las lesiones. En conclusión, 8 conejas/grupo resultaron ser demasiadas, aumentando agresiones, nidos compartidos y disminuyendo la tasa de fertilidad, mientras que 4 conejas por grupo mostraron resultados prometedores cuando se agruparon una vez preñadas.

Palabras clave: alojamiento grupal, fertilidad, prolificidad, regulación.

Abstract:

The forthcoming new regulation on rabbit farming is expected to recommend keeping does grouped instead of single-housed. This study compares productivity between single- and group-housed does. Nulliparous does (4.7 ± 0.3 kg) were divided into 3 groups: G1 (8 does individually housed), G4 (4 does/group), and G8 (8 does/group). All does were artificially inseminated (AI) and housed individually for the first 18 days, after which treatments began. G1 were housed in standard individual cages. G4 and G8 were housed in a $1.6 \times 1.5 \times 0.6$ m prototype group housing with individual nests, shared waterers, and a feeder platform. G1 does body weight (BW) increased from 1st kidding (4.42 ± 0.15 kg/doe) to the end of the study (4.91 ± 0.15 kg/doe; $P < 0.001$), 1st kidding rate was 63%, prolificity was 10.2 kits/parturition, and 2nd kidding rate was 100%. G4 does BW decreased from 1st kidding (4.71 ± 0.22 kg/doe) to the end of the study (4.28 ± 0.22 kg/doe; $P = 0.018$), 1st kidding rate was 100%, prolificity was 12.3 kits/parturition, and 2nd kidding rate was 0%. G4 had mild injuries that healed fast with minor alopecia, kindled in separate nests with all kits born alive on the 1st parturition. G8 does BW increased from 1st kidding (4.41 ± 0.15 kg/doe) to the end of the study (4.70 ± 0.15 kg/doe; $P < 0.001$), 1st kidding rate was 63% and prolificity was 10.2 kits/parturition, and kidding rate was 12.5%. In G8, fights and injuries started earlier and were more frequent and severe than G4, and 2 does kindled in the same nest. The study ended at 2nd parturition because does in G8 needed to recover from the injuries. Overall, 8 does/group seemed too high as increased aggressions, shared nesting, and lower kidding rates. The 4 does/group was promising when grouped once pregnant, but AI in group reduced kidding success.

Keywords: fertility, group-housing, prolificacy, regulation.

Introducción

Se baraja la posibilidad de que la nueva normativa EU para cunicultura establezca requisitos de cría en grupo para mejorar el bienestar de los animales. Sin embargo, hasta el momento, los trabajos realizados en esta línea han descrito problemas de estrés crónico, agresividad y lesiones, así como mayor riesgo de enfermedades y mortalidad (Szendrő y McNitt, 2012; Szendrő *et al.*, 2013), lo que repercute también en la productividad de las conejas. Los sistemas de alojamiento grupal a tiempo parcial para asegurar una alta fertilidad y prolificidad también han mostrado el aumento de comportamientos agresivos (morder, amenazar y atacar) cada vez que se juntan las conejas (Zomeño, 2017). El objetivo fue evaluar la viabilidad de la cría de madres en grupo durante dos ciclos productivos.

Material y métodos

Se dividieron 20 conejas de raza neozelandés blanco nulíparas ($4,7 \pm 0,3$ kg) en 3 grupos: G1, 8 conejas alojadas individualmente; G4, 4 conejas/grupo; G8, 8 conejas/grupo). Para G1 se usó un alojamiento individual estándar en jaulas. Para G4 y G8 se usó un prototipo de alojamiento grupal de $1,6 \times 1,5 \times 0,6$ m con nidos individuales, bebederos compartidos a 13 cm del suelo y un comedero en plataforma. Todas las conejas fueron inseminadas (IA) y alojadas individualmente durante los primeros 18 días, después de los cuales comenzaron los tratamientos. El intervalo previsto entre partos era de 42 días, y destete a los 32 días. Los nidos tipo sandwich con viruta se revisaban diariamente. El consumo de alimento y el peso se controló semanalmente desde el inicio del estudio (W-2) hasta 3 días antes del segundo parto (W5), momento en que se puso punto final al estudio.

El protocolo de observación semanal incluía: estado de limpieza del comedero y bebedero y su funcionamiento; control de temperatura y humedad del alojamiento y jadeo de los animales; presencia de animales sucios según el protocolo Classyfarm (2022) de 0 (perfectamente limpio, pelaje uniforme, liso y seco) a 2 (suciedad cubre $>30\%$ de la capa); lesiones y heridas en la piel según De Jong *et al.* (2011), donde se mira cabeza y orejas, cuerpo y extremidades, genitales o ano y la cola y se puntúa de 0 a 3, donde 0 es sin heridas y 3 es herida sangrante. zonas sin pelo de ≥ 2 cm (Dalmau *et al.*, 2020); presencia de pododermatitis de 0 (almohadilla sana) a 4 (herida abierta) según De Jong *et al.* (2011). En las orejas se considera herida si mide > 2 cm (Dalmau *et al.* 2020).

El comportamiento se evaluó con observación diaria 3 veces al día durante todo el estudio de lunes a viernes, y dos veces diarias el fin de semana. Se hacía un barrido por grupo y se anotaba: n° conejas en el nido, el patio, el comedero o debajo del comedero, y si se veía alguno de los siguientes comportamientos: saltar, correr, estar estirado, agredir, ponerse de pie, monta y acicalado.

Análisis estadístico

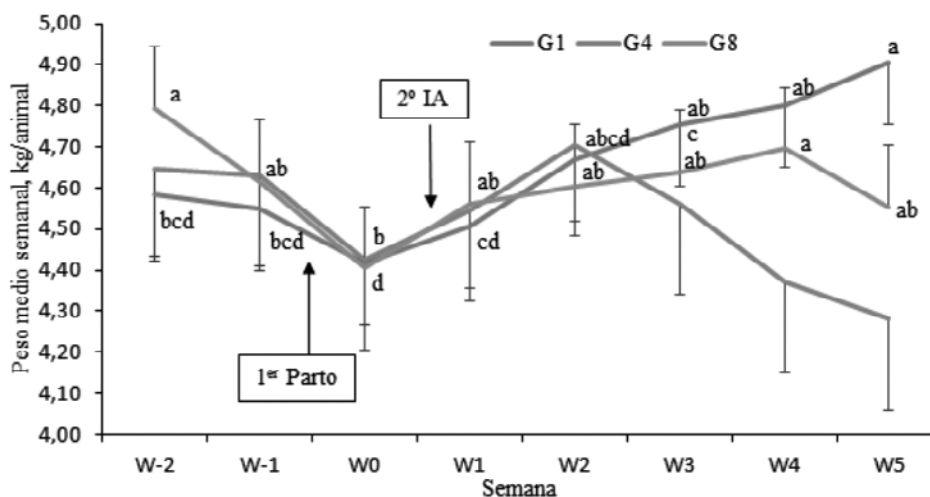
Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con SAS v 9.4 (2016). Se confirmó la normalidad de los datos para el consumo de alimento y el peso de las madres y gazapos con PROC UNIVARIATE en base a la distribución de los datos, QQPLOT y Shapiro-Wilk test. La evolución del consumo medio diario de las madres y el peso medio de los gazapos por grupo se evaluaron mediante PROC GLM con corrección de Tukey. La evolución del peso medio diario individual de las madres durante todo el estudio y de las crías hasta las 3 semanas de vida (W0 a W2) se evaluó con PROC MIXED con el grupo, la semana y la interacción como efectos fijos, y el animal anidado en el grupo como factor aleatorio. Los datos de fertilidad, prolificidad, y de comportamiento se exponen de forma descriptiva. La fertilidad se calculó como $[(n^\circ \text{ paridas}/n^\circ \text{ de inseminadas}) \times 100]$ y la prolificidad como (nacidos vivos y muertos)/ parto.

Resultados y discusión

El peso de las madres fue similar entre grupos a lo largo de todo el estudio, mientras que hubo diferencias significativas entre las semanas. La interacción entre el grupo y la semana también fue significativa, ya que la fertilidad fue distinta entre los grupos. En la primera IA, solo 5 conejas G1 parieron (Fertilidad, 62,5%), mientras que todas ellas parieron en la 2ª cubrición (Fertilidad, 100%), lo que explica el aumento significativo de peso de G1 desde W0 ($4,42 \pm 0,15$ kg/animal) hasta W5 ($4,91 \pm 0,15$ kg/animal; $P < 0.001$; Fig. 1). Por otro lado, en la primera IA, las 4 conejas G4 parieron (Fertilidad, 100%), mientras que ninguna de ellas quedó gestante en la 2ª cubrición, disminuyendo el peso desde W2 ($4,71 \pm 0,22$ kg/animal) hasta W5 ($4,28 \pm 0,22$

kg/animal; $P = 0,018$; Fig. 1). En la primera IA, solo 6 conejas G8 parieron (Fertilidad, 75,0%), mientras que solo una parió gazapos no viables en la 2ª cubrición a los 28 días de gestación (Fertilidad, 12,5%). Por ello, en G8 se observó una bajada de peso desde el inicio del estudio (W-2, $4,79 \pm 0,15$ kg/animal) hasta el primer parto (W0, $4,41 \pm 0,15$ kg/animal; $P < 0,001$), y un aumento de peso hasta W4 (W4, $4,70 \pm 0,15$ kg/animal; $P = 0,028$; Fig. 1).

Figura 1. Evolución semanal del peso medio de las madres durante el estudio. Se indica momento aproximado del 1er parto y de la 2ª inseminación (IA). En cada grupo, distintas letras significa diferencias a $P < 0,05$.



El consumo medio de las conejas fue aumentando progresivamente a medida que avanzaba la lactación, empezando a disminuir de nuevo en el momento del destete, desde $0,098 \pm 0,119$ kg/hembra y día en la semana previa al primer parto (W-1) hasta $0,704 \pm 0,119$ kg/hembra y día en la semana previa al segundo parto (W5; $P = 0,037$). Hay que tener en cuenta que a partir de los 16-18 días post-parto, es decir de W2 a W4, los gazapos salían del nido y empezaban a consumir pienso del comedero de las madres.

En la **Tabla 1** se muestra el número de gazapos vivos y muertos por grupo, y las bajas desde el día siguiente al nacimiento hasta el destete para el primer parto. La prolificidad fue de 10,2 gazapos por parto/hembra para el G1, de 12,3 gazapos por parto/hembra para G4, y de 8,1 gazapos por parto/hembra para G8. El peso medio de los gazapos por grupo aumentó desde los $65,9 \pm 11,7$ g/día a los dos días del nacimiento (W0) hasta $735,1 \pm 11,7$ g/día al destete a los 32 días (W4) de vida ($P < 0,001$) con un aumento significativo entre todas las semanas. El peso medio individual de los gazapos por día fue similar entre grupos.

Tabla 1. Nacidos vivos, muertos, y mortalidad del primer parto

Grupo	Nacidos Vivos	Nacidos Muertos	Bajas hasta el destete
G1	48	3	6
G4	49	0	13
G8	53	4	18

En G1 no hubo bajas relevantes entre los gazapos durante la primera lactación. Las conejas y gazapos estaban en buen estado, y las madres no mostraron lesiones más allá de una ligera alopecia en la zona de la nariz por rascarse con el comedero y arrancarse el pelo unas a otras a través de los barrotes de la jaula. Los comportamientos positivos como el contacto corporal, contacto nariz-cuerpo, olfateo y contacto nariz-nariz eran limitados ya que no podían interactuar libremente con las conejas vecinas (Protocolo Ebene; ITAVI 2018). También se observaron algunas estereotipias como moder la jaula (Dalmau et al., 2020).

En el primer parto, cada coneja G4 parió en un nido, los gazapos crecieron bien y no se registró mortalidad pasados los 3 días del parto hasta el día 16 de lactación. En ese momento, aparece un nido con todos los gazapos muertos (peso medio por gazapo, 85 g). Cuando los gazapos empiezan a salir y entrar del nido (día 18 de lactación aprox), el número de gazapos por nido fluctúa, manteniéndose el total del grupo estable. Las conejas presentaron lesiones leves (grado 1) que curaban rápidamente sin necesidad de intervención (De

Jong *et al.*, 2011), y mostraron cierta alopecia en la zona de la nariz (Dalmau *et al.*, 2020). Se observaron algunas peleas, pero las conejas disponían de espacio suficiente para escapar y esconderse tanto en los nidos como debajo o encima de la plataforma del comedero. Las lesiones se centraban en las puntas de las orejas. No se observaron estereotipias, y se registraron con frecuencia comportamientos positivos de contacto corporal, nariz-cuerpo, olfateo y nariz-nariz (Protocolo Ebene; ITAVI 2018). Se registraron también algunos comportamientos sociales negativos como es que unas conejas muerdan a otras (Dalmau *et al.*, 2020). Estos resultados contrastan con estudios previos recogidos en Szendrő *et al.* (2016) donde hubo una alta incidencia de peleas y lesiones en grupos de 4 madres. De igual manera, la fertilidad en el primer parto obtenida fue mayor que lo indicado en Szendrő *et al.* (2013), donde no alcanzaron el 50%.

En el primer parto, hubo una coneja G8 que parió fuera del nido a causa de una pelea en el momento del parto pudiéndose rescatar 3 de los 11 gazapos que se reparten entre los otros 3 nidos con crías. Dos conejas parieron en el mismo nido con menos de 24h de diferencia, por lo que se dan en adopción 7 gazapos a otro nido. El hecho de que dos madres parieran en el mismo nido sin que ello supusiera conflictos agresivos está en línea con la revisión de Szendrő *et al.* (2016). Quedaron 4 nidos activos, y otros 4 vacíos hasta el día 16 de lactación, donde se encuentra un nido con todos los gazapos muertos (7 gazapos; peso medio por gazapo, 80 g). El nido con las dos madres se mantuvo con 16 gazapos vivos hasta el destete, lo que contrasta con Szendrő *et al.* (2013), quienes observaron una alta mortalidad de los gazapos nacidos en nidos compartidos. Las peleas fueron aumentando de frecuencia e intensidad a medida que avanzaba el estudio, causando heridas en las orejas de > 2cm (Dalmau *et al.*, 2020), y en varias ocasiones sangrantes (grado 3; De Jong *et al.*, 2011). No se observaron estereotipias, y se registraron comportamientos positivos según (ITAVI, 2018). Se puso fin al estudio ya que 2 conejas tuvieron que ser aisladas del grupo para que se recuperan de las graves lesiones sufridas por peleas con sus compañeras de grupo que les habían causado la pérdida de más de un tercio de la oreja.

Durante todo el estudio las conejas mostraron una aceptable cobertura muscular con prominencias óseas insinuadas o buena cobertura muscular, sin protuberancias óseas visibles durante todo el estudio, estaban perfectamente limpias y con un pelaje uniforme, liso y seco, y las almohadillas plantares estaban sanas (Classyfarm, 2022). Se mantuvo el confort térmico durante todo el estudio, y los animales no mostraron jadeo (Dalmau *et al.*, 2020).

En conclusión, el alojamiento individual dio los mejores resultados en cuanto a evitar peleas, fertilidad, y mortalidad de gazapos, pero mostraron estereotipias. El grupo de 8 hembras supuso una alta densidad ya que mostraron un aumento en agresiones, nidos compartidos, y menor fertilidad, aunque también se registraron comportamientos sociales positivos. El grupo de 4 hembras resultó prometedor cuando se las agrupó una vez preñadas, ya que mostraron con frecuencia comportamientos sociales positivos, no se vieron estereotipias, y las peleas fueron poco frecuentes y sin lesiones relevantes. Estudios futuros se centrarán en la creación de grupos estables de hembras desde el destete para mejorar la socialización, reducir las lesiones y aumentar la fertilidad.

Agradecimientos: Ajuts Activitat Demostració, Generalitat de Catalunya DARPA (Bienestar y rentabilidad: diseño de parques para cría de conejas en grupo.). Actividad cofinanciada por la UE a través de la intervención 7201 del PEPAC 2023-2027.

Bibliografía

- Classyfarm. 2022. *Animal welfare assessment in rabbit farming: Manual for official controls. Drafted in 2022, under approval.* <http://www.classyfarm.it>
- Dalmau A, Moles X, Pallerisa J. 2020. *Animal welfare assessment protocol for does, bucks, and kit rabbits reared for production.* *Front Vet Sci* 7:445 Doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00445>
- De Jong IC, Reuvekamp BF, Rommers JM. 2011. De Jong, I. C., 2011. *A welfare assessment protocol for commercially housed rabbits. Report 532. Wageningen UR Livestock Research, Lelystad, Netherland.* <https://edepot.wur.nl/197480>
- ITAVI, 2018. *Evaluer le bien-être des lapins en maternité et en croissance. Protocole EBENE.* https://www.itavi.asso.fr/publications/protocole-ebene-guide-pour-lesutilisateurs/download/627bbc3fc0cd_EBENE_Protocole_Lapin.pdf
- SAS Institute. 2016. *SAS/STAT® User's Guide (Release 9.4).* SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

- Szendró Zs, McNitt JI. 2012. Housing of rabbit does: Group and individual systems: A review. *Livest Sci.* 150: 1-10. doi:10.1016/j.livsci. 2012.09.017
- Szendró Zs, McNitt JI, Matics Zs, Mikó A, Gerencsér Zs. 2016. Alternative and enriched housing systems for breeding does: a review. *World Rabbit Sci.* 24: 1-14. doi:10.4995/wrs.2016.3801
- Szendró Zs, Mikó A, Odermatt M, Gerencsér Zs, Radnai I, Dezséry B, Garai É, Nagy I, Szendró K, Matics Zs. 2013. Comparison of performance and welfare of single-caged and group-housed rabbit does. *Anim* 7:463-468. Doi:10.1017/S1751731112001760
- Zomeño C, Birolo M, Zuffellato A, Xiccato G, Trocino A. 2017. Aggressiveness in group-housed rabbit does: Influence of group size and pen characteristics. *Appl Anim Behav Sci* 194:79-85. Doi: 10.1016/j.applanim. 2017.05.016.

Estudio de los sistemas de cría de mayor bienestar para conejos de engorde

A study on higher-welfare farming systems for meat rabbits

Murphy E, Moreno García-Doncel M*, Bellegarde L, Legrand A.

Compassion in World Farming International, Food Business.

**maria.moreno@ciwfi.org*

Resumen

La mayoría de los conejos de carne se crían en jaulas no acondicionadas. Estos sistemas no satisfacen las necesidades básicas de los conejos (espacio, comodidad, fibra alimentaria, materiales para roer, escondites) y es imposible que los animales expresen comportamientos asociados a un nivel positivo de bienestar animal (juego, elección del entorno). El potencial de bienestar animal en las jaulas es limitado, y los esfuerzos por introducir mejoras no han sido eficaces porque el propio sistema es el factor limitante. Se realizó una revisión bibliográfica y un viaje de estudio para analizar las alternativas existentes fuera de las jaulas, con el objetivo de: 1) identificar los sistemas fuera de jaula que mejor satisfacen las necesidades de los conejos, 2) evaluar los retos que estos sistemas suponen para los productores y cómo pueden mitigarse, y 3) identificar los beneficios que estos sistemas pueden reportar a los productores en comparación con el sistema convencional. A partir de la bibliografía, se han identificado varios sistemas de cría de conejos sin jaulas, que pueden dividirse en sistemas de interior (parque, corral, corral con cama y corral con jardín de invierno) y sistemas de exterior (móvil y fijo).

Palabras clave: bienestar animal, conejos de carne, necesidades de comportamiento, cría alternativa, cría sin jaulas.

Abstract

Rabbits kept for meat production are most commonly housed in small, barren cages. These systems fail to meet basic needs of rabbits (space, comfort, food fibre, gnawing materials, hiding places) and it is impossible for the animals to express behaviours associated with a positive level of animal welfare (play, choice of environment). The potential for animal welfare in cages is limited, and efforts to make improvements have not been effective because the system itself is the limiting factor. A literature review and field trip was conducted to analyse existing non-cage alternatives with the aim of: 1) identifying the non-cage systems that best meet the needs of rabbits, 2) assessing the challenges these systems pose for producers and how they can be mitigated, and 3) identifying the benefits these systems can bring to producers compared to the conventional system. From the literature, a number of non-cage rabbit husbandry systems have been identified, which can be divided into indoor systems (park, pen, pen with litter and pen with winter garden) and outdoor systems (mobile and stationary).

Keywords: animal welfare, meat rabbits; behavioural needs, alternative husbandry, cage-free systems.

Introducción

En la producción comercial los conejos de carne se alojan principalmente en jaulas convencionales, estériles, con un porcentaje menor en jaulas enriquecidas (85% y 9% de la producción, respectivamente, Comisión Europea, 2017). En la producción de conejos convencional de, se ha prestado poca atención a las necesidades de comportamiento de los conejos de granja (Dalmau *et al.*, 2020). Los conejos en sistemas enjaulados son incapaces de realizar importantes comportamientos altamente motivados que pueden conducir al estrés, comportamientos anormales y un sistema inmunológico debilitado.

Lidfors *et al.* (2007) resumieron las necesidades de comportamiento de los conejos: locomoción y ejercicio (saltos, brincos y cambios repentinos de dirección), control de la seguridad (crianza, esconderse, excavar, provisión de madriguera), búsqueda de comida (exploración, manipulación, roer), ritmo de comportamiento, compañía y contacto social, aprendizaje (juego y exploración) y nidificación para las hembras reproductoras. Muy pocas de estas necesidades pueden verse satisfechas en los sistemas de jaulas.

En la UE, las jaulas convencionales tienen un tamaño que oscila entre 43,5 - 102 cm x 38 - 46 cm (l x b) y una altura de 32 - 39 cm (EFSA, 2020). En estas jaulas los conejos de engorde se suelen alojar con una densidad de población de 40-50 kg/m² (Comisión Europea, 2017), lo que equivale a 460 - 575 cm² para un conejo medio sacrificado al peso de 2,3 kg. Las jaulas enriquecidas, aunque añaden más espacio vertical (60-80 cm de altura, EFSA, 2020) y alojan a los animales a una densidad de 40 kg/m² (Comisión Europea, 2017), aun proporcionan menos de 600 cm² para un conejo medio de 2,3 kg.

Para cuando alcanzan el peso de sacrificio, los conejos en las jaulas ocupan la mayor parte de la superficie disponible simplemente en posición sentada, hasta un 97% del espacio disponible (Giersberg *et al.* 2015). De esta manera no hay espacio suficiente para que todos los conejos descansen cómodamente al mismo tiempo, por no hablar de realizar comportamientos básicos. Tomando un enfoque alométrico del espacio disponible, que calcula la cantidad de espacio que necesita un animal en función de su peso y su posición corporal (Petherick, 2007), un conejo de 2,3 kg necesita ≥ 800 cm² para descansar cómodamente, así como para realizar comportamientos básicos como ponerse de pie, alimentarse y beber (**Tabla 1**). Lo ideal es que un conejo en crecimiento disponga de espacio suficiente para realizar comportamientos activos como jugar, en cuyo caso necesita un espacio disponible de ≥ 1200 cm². Los conejos también necesitan suficiente espacio horizontal, que les permita realizar al menos «tres saltos consecutivos» (EFSA, 2020). Aunque la longitud del salto puede variar, se sugiere que la longitud de un corral de ≥ 180 cm permite saltos consecutivos (por ejemplo, Haltungsform, <https://haltungsform.de/en/>). Aumentar el espacio total disponible proporciona más oportunidades para los comportamientos activos. El espacio vertical también es esencial para permitir comportamientos básicos: los conejos adultos necesitan 70-80 cm para poder mantenerse erguidos con las orejas extendidas (EFSA, 2005).

Tabla 1. Enfoque alométrico para las asignaciones de espacio y las densidades de población para conejos de engorde basados en el peso final de sacrificio ($A=kW^{0.67}$, donde A = m²/animal, W = peso vivo en kg, y k es una constante que depende de la posición/postura del cuerpo del animal).

Peso en el momento del sacrificio (kg)	Comportamiento básico*			Comportamiento activo†		
	cm ² /conejo	conejos/m ²	kg/m ²	cm ² /conejo	conejos/m ²	kg/m ²
2,1	751	13	28	1118	9	19
2,3	798	13	29	1188	8	19
2,5	844	12	30	1256	8	20
2,7	889	11	30	1323	8	20
2,9	933	11	31	1388	7	21

* Cálculo alométrico basado en $k=0,0457$ para comportamientos básicos (Jones, 2014)

† Cálculo alométrico basado en $k=0,068$ para comportamientos activos (Jones, 2014)

Tanto las jaulas convencionales como las enriquecidas suelen tener suelos de malla metálica, que son incómodos, limitan la actividad y además pueden causar lesiones dolorosas, sobre todo en las conejas reproductoras. Las pruebas de preferencia y elección indican que los conejos prefieren los suelos que proporcionan más apoyo para las patas en comparación con la malla metálica (p. ej., Matics *et al.*, 2003), es decir, alfombrillas reposapiés de plástico, rejillas de plástico o listones de plástico, mientras que los estudios muestran que los suelos más cómodos reducen la incidencia de lesiones en las hembras reproductoras (p. ej., Rommers y de Greef, 2021) y promueven un comportamiento más activo (Dal Bosco *et al.*, 2002).

Las jaulas convencionales generalmente son estériles y no ofrecen oportunidades para que los conejos expresen muchos comportamientos importantes. Aunque las jaulas enriquecidas incluyen plataformas y, a veces, material básico para roer, el comportamiento sigue estando severamente limitado. Los conejos se sienten motivados a acceder a las plataformas (Seaman *et al.*, 2008), y realizan más comportamientos activos cuando las plataformas están presentes, lo que puede tener un efecto positivo en la fortaleza ósea (Matics *et al.*, 2014). Por lo general, los conejos prefieren permanecer a cubierto a la luz del día. En cautividad, los conejos con acceso a zonas de poca luz muestran un comportamiento menos anormal e inquieto (Hansen y Berthelsen, 2000), lo que indica menos incomodidad. Además, los sistemas de producción convencionales suelen depender de luz artificial, a menudo sin que existan transiciones graduales entre los períodos de luz y oscuridad. Gran parte del comportamiento de los conejos se desencadena por los cambios de iluminación, y son más activos durante el amanecer y el atardecer. Los cambios bruscos de iluminación también pueden ser negativos y provocar sobresaltos en los conejos (EFSA, 2022; Lidfors, 2024).

Roer y masticar son una parte importante del repertorio comportamental de un conejo y son necesarios para una buena salud bucal. La incapacidad de expresar el comportamiento de roer es el principal factor de

riesgo para el desarrollo de comportamientos anormales, ya sea dirigidos a la jaula o a sus compañeros de recinto (EFSA, 2020). Proporcionar material para roer reduce la masticación de la jaula, las lesiones en la piel y las orejas, y el miedo y el estrés.

Los sistemas de producción en jaulas convencionales (jaulas estándar y enriquecidas) no satisfacen estas necesidades comportamentales de los conejos y, por lo tanto, tienen un bajo potencial de bienestar. No se pueden mejorar ya que el factor limitante es el propio sistema. Los sistemas de jaulas para conejos de engorde están siendo eliminados en algunos países debido a cambios en la legislación nacional (por ejemplo, Bélgica) o se está llevando a cabo una transición voluntaria por parte de los productores (por ejemplo, los Países Bajos, y en cierta medida, Francia) para anticipar el cambio legislativo (debido a la Iniciativa Ciudadana Europea, "End the Cage Age") y/o satisfacer la creciente demanda de los consumidores de productos sin jaulas, por lo que existen alternativas comerciales a los sistemas de jaulas. Varias empresas líderes también se han comprometido a eliminar las jaulas de su cadena de suministro de carne de conejo. Este trabajo tuvo como objetivo identificar sistemas de producción de conejos sin jaulas existentes para conejos de engorde con un mayor potencial de bienestar y evaluarlos en función de su capacidad para satisfacer las necesidades comportamentales básicas de los conejos, pero también para proporcionar una buena calidad de vida, ofreciendo a los conejos control y elección sobre su entorno.

Material y métodos

Para evaluar los diferentes sistemas de producción de conejos, se realizó una revisión de la literatura científica con dos objetivos 1) identificar las necesidades de comportamiento de los conejos, y 2) identificar los diferentes tipos de sistemas de alojamiento para conejos de engorde y sus ventajas y potenciales inconvenientes. Los tipos de sistemas de producción se agruparon en función de sus características comunes, y cada tipo identificado se evaluó según su potencial para satisfacer las necesidades de comportamiento de los conejos de engorde.

Se identificaron productores comerciales de conejos que utilizan diversos sistemas de cría sin jaulas, en particular a partir de los ganadores del Premio Mejor Conejo de Compassion in World Farming, que reconoce a las empresas que utilizan o se comprometen a utilizar (en un plazo de cinco años) sistemas de mayor bienestar para conejas de reproducción y conejos de engorde. Se contactó con estos productores y, para los que fue posible, se visitó la granja para ver el sistema. En total, se identificaron seis productores (de Europa, Asia y Norteamérica), que representaban siete tipos de sistemas diferentes, y se realizaron cuatro visitas a granjas (Francia y Alemania). Se identificaron las principales características de cada sistema.

Resultados y discusión

A través de la búsqueda bibliográfica, se identificaron doce características de alojamiento necesarias para permitir la expresión de comportamientos clave (Tabla 2). Las características clave que determinan el potencial de bienestar del sistema son aquellas que proporcionan comodidad (por ejemplo, espacio, tipo de suelo, iluminación), aquellas que satisfacen las necesidades básicas (por ejemplo, saltar, esconderse y roer) y aquellas que contribuyen a proporcionar una buena calidad de vida para los conejos de engorde (por ejemplo, oportunidades para jugar, excavar, pastar y ejercitar un grado de elección/control sobre las condiciones ambientales).

Se identificaron ocho tipos de sistemas de producción para conejos de engorde en la literatura, los cuales se pueden agrupar en cuatro categorías (sistemas de jaulas: estándar y enriquecidas; sistemas de parques elevados; sistemas de corrales: corrales estándar, corrales con cama y corrales con jardines de invierno; y sistemas sin jaulas en el exterior: alojamiento móviles y sistemas "free-range"). El potencial de bienestar de los diferentes sistemas se evaluó de acuerdo con las doce características de alojamiento (Tabla 2).

Los sistemas de alojamiento sin jaulas que tienen en cuenta las necesidades de los conejos al proporcionarles más espacio y un ambiente más cómodo y estimulante tienen un mayor potencial de bienestar que los sistemas en jaulas. Las mejoras en las jaulas convencionales (es decir, jaulas enriquecidas) tienen pocos beneficios adicionales para los animales y muchos de los mismos problemas de bienestar persisten.

Tabla 2. Potencial de bienestar de los sistemas de producción conejos de engorde

Características clave de los sistemas	Jaulas estándar	Jaulas enriquecidas	Sistemas de parque	Sistemas de corral	Corrales con cama de paja	Corrales con jardines de invierno	Sistemas sin jaulas en el exterior	
							Alojamiento móvil	Sistemas "free-range"
Espacio para descansar	✗	✗	✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓✓
Espacio para saltar	✗	✗	✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓	✓✓✓
Espacio para jugar	✗	✗	✗	✓✓	✓✓	✓✓	~	✓✓✓
Espacio para erguirse	✗	~	✓✓	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓	~	✓✓✓
Suelo cómodo	✗	~	✓	✓	✓✓	✓	✓✓	✓✓✓
Lugares para esconderse	✗	✗	✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓
Material para roer	✗	~	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓✓
Transiciones amanecer/anochece	✗	✗	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
Luz natural	✗	✗	~	~	~	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
Elección del entorno	✗	✗	✗	✗	✗	✓✓	✓✓	✓✓✓
Oportunidades de pastoreo	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✓✓	✓✓✓
Oportunidades de excavación	✗	✗	✗	✗	✓	✗	~	✓✓✓

✗: No se proporcionan típicamente.

~: Se proporcionan, pero son insuficientes en determinados sistemas.

✓ Se proporcionan típicamente (y en qué medida).

El potencial de bienestar de los sistemas sin jaulas aumenta desde los parques hasta los corrales, y nuevamente hasta los corrales con cama de paja y/o acceso a jardines de invierno. Los sistemas con acceso a un amplio espacio al aire libre y que ofrecen un buen refugio tienen el mayor potencial de bienestar para los conejos de engorde. La monitorización regular de los indicadores de bienestar puede garantizar que el sistema de alojamiento esté brindando los beneficios de bienestar esperados.

Se desarrollaron estudios de casos de diversos sistemas sin jaulas a partir de entrevistas a ganaderos y visitas a granjas. Estos productores representaban una amplia variedad de alternativas sin jaulas, desde sistemas de parque hasta sistemas de corrales en el suelo (con y sin cama, con jardines de invierno) y un productor al aire libre que utilizaba alojamiento móvil. Al igual que con los beneficios para los conejos, los beneficios para los productores variaban según el tipo de sistema y, en algunos casos, según las prácticas específicas utilizadas por un productor en su sistema. En general, los productores se mostraron muy satisfechos con el sistema elegido, disfrutaban pasando tiempo en el alojamiento y estaban más satisfechos de que el alojamiento fuera mejor para los conejos. En todos los sistemas visitados, no se utilizaban antibióticos de forma rutinaria y las tasas de mortalidad eran relativamente bajas (2-5%).

El potencial de bienestar de los sistemas de alojamiento para conejos de engorde depende de su capacidad para satisfacer las necesidades de los animales. Los sistemas de jaulas no logran satisfacer las necesidades básicas de los conejos de engorde y, por lo tanto, tienen un bajo potencial de bienestar. Distintas alternativas sin jaulas en la producción comercial que tienen un mayor potencial de bienestar, están ya disponibles para su utilización y pueden satisfacer las necesidades básicas de los conejos. El potencial de bienestar de los sistemas sin jaulas aumenta cuanto más espacio, enriquecimiento, oportunidades para la expresión comportamental y opciones se proporcionan dentro del sistema.

Cambiar a la cría de conejos sin jaulas también puede proteger la reputación de la marca y mitigar el riesgo de una cobertura mediática negativa asociada con la producción en jaulas. La cría de conejos sin jaulas también puede beneficiar a la industria del conejo al atraer a nuevos y jóvenes agricultores al sector.

Agradecimientos: gracias a los ganadores del Premio Mejor Conejo por facilitar las visitas a las granjas, y a los propios criadores por compartir sus experiencias.

Bibliografía

- Dal Bosco A, Castellini C, Mugnai C. 2002. Rearing rabbits on a wire net floor or straw litter: behaviour, growth and meat qualitative traits. *Livest Prod Sci.* 75(2):149-56.
- Dalmau A, Moles X, Pallisera J. 2020. Animal welfare assessment protocol for does, bucks, and kit rabbits reared for production. *Front Vet Sci.* 7:445.
- EFSA Scientific Panel on Animal Health and Welfare. 2005. The Impact of the current housing and husbandry systems on the health and welfare of farmed domestic rabbits. *EFSA J.* 267:1-31.
- EFSA Panel on Animal Health and Animal Welfare. 2020. Health and welfare of rabbits farmed in different production systems. *EFSA J.* 18:1: e05944.
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare. 2022. Welfare of domestic birds and rabbits transported in containers. *EFSA J.* 20:9: e07441.
- European Commission: Directorate-General for Health and Food Safety. 2017. Commercial rabbit farming in the European Union – Overview report, Publications Office, <https://data.europa.eu/doi/10.2772/62174>.
- Giersberg MF, Kemper N, Fels M. 2015. Planimetric measurement of floor space covered by fattening rabbits and breeding does in different body positions and weight classes. *Livest Sci.* 177:142-150.
- Hansen LT, Berthelsen, H. 2000. The effect of environmental enrichment on the behaviour of caged rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Appl Anim Behav Sci.* 68:163-178.
- Jones T. 2014. Space allowance for confined livestock: minimum legislative limits, allometric principles and best practice compared. En: 48th Congress International Society for Applied Ethology, Vitoria-Gasteiz Spain, pp. 198-198.
- Lidfors L, Edström T, Lindberg L. 2007. The welfare of laboratory rabbits. En: Kaliste, E (Ed.) *The Welfare of Laboratory Animals*, Springer, The Netherlands, pp. 211-243.
- Lidfors L, & Edström T. 2024. The laboratory rabbit. En: (Hubrecht, R. Kirkwood J (Eds.) *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*, Wiley-Blackwell, West Sussex, U.K. pp. 484-505.
- Matics Z, Szendrő Z, Radnai I, Biró-Németh E, Gyovai M. 2003. Examination of free choice of rabbits among different cage-floors. *Poljopr Znan Smotra.* 68(4):265-8.
- Matics ZS, Szendrő Z, Odermatt M, Gerencsér Z, Nagy I, Radnai I, Dalle Zotte A. 2014. Effect of housing conditions on production, carcass and meat quality traits of growing rabbits. *Meat Sci.* 96:41-46.
- Petherick JC. 2007. Spatial requirements of animals: Allometry and beyond. *J Vet Behav.* 2:197-204.
- Rommers, JM, de Greef KH. 2021. Are plastic mats effective for diminishing pododermatitis in rabbit does? A survey after 10 years in the Netherlands. En: 12th World Rabbit Congress, Nantes, France pp.1-4.
- Seaman SC, Waran NK, Mason G, D'Eath RB. 2008. Animal economics: assessing the motivation of female laboratory rabbits to reach a platform, social contact and food. *Anim Behav.* 75:31-42.

CALIDAD AMBIENTAL

Compostaje de estiércoles cunícolas: efecto de la tecnología aplicada sobre la calidad del proceso y el producto

Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante M, Moral R

Emisiones de gases de efecto invernadero en los procesos de compostaje de estiércoles de conejo: análisis de dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) y metano (CH₄)

Manrique Córdoba N, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante MA, Moral R

Nuevos sensores para el control del amoníaco en naves de conejo

Agea I, Serrano-Jara D, Monforte-Gómez B, Cortés-Bautista S, Argente MJ, Campíns-Falcó P, García ML

Compostaje de estiércoles cunícolas: efecto de la tecnología aplicada sobre la calidad del proceso y el producto

Rabbit manure composting: effect of the applied technology on the process and product quality

Manrique Córdoba N*, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante M, Moral R

Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel Km 3,2, Orihuela, Alicante 03312, España.

*nmanrique@umh.es

Resumen

El compostaje es una de las técnicas más utilizadas para la gestión de los residuos orgánicos debido a sus beneficios ambientales y su capacidad para transformar residuos en productos de alto valor añadido. En este estudio, se empleará una mezcla de estiércol de cría intensiva de conejos y poda de vid, evaluando su comportamiento en dos sistemas de compostaje: abierto y cerrado. El sistema abierto (*windrow composting*), consiste en la formación de pilas de residuos orgánicos al aire libre, con volteo mecanizado para garantizar la oxigenación. Se caracteriza por su bajo coste y simplicidad operativa, aunque requiere grandes espacios y puede generar malos olores y lixiviados, si no se maneja adecuadamente. Por otro lado, el compostaje en sistema cerrado (*in-vessel composting*), se lleva a cabo en reactores, lo que permite una regulación precisa de parámetros como temperatura, humedad y oxigenación. Esto favorece una descomposición más eficiente, minimizando olores y lixiviados, lo que lo hace ideal para áreas urbanas con restricciones ambientales. El objetivo de este estudio es comparar ambos sistemas de compostaje, evaluando la eficiencia del proceso y la calidad del producto final obtenido. Los resultados obtenidos en este estudio han mostrado la viabilidad de ambos sistemas de compostaje para la gestión de los estiércoles de conejo. Es necesario optimizar el diseño de la mezcla de compostaje para obtener un compost sin ninguna restricción para su uso agrícola.

Palabras clave: economía circular, sistemas de compostaje, estiércol de conejo, poda de vid.

Abstract

Composting is one of the most widely technique used for organic waste management due to its environmental benefits and its ability to transform wastes into a high added-value products. This study investigates the composting of a mixture of manure from intensive rabbit rearing and vine pruning, as well as evaluates its development in two composting systems: open and closed. The open system, known as *windrow composting*, involves the formation of piles of organic waste in the open air, with mechanised turning to ensure proper oxygenation. It is a cheap and simple method, but it requires large areas of land and, if not managed properly, can produce unpleasant odours and leachates. In contrast, *in-vessel composting* takes place in reactors that allow precise regulation of key parameters such as temperature, humidity and oxygen levels. This controlled environment increases decomposition efficiency while minimising odours and leachates, making it particularly suitable for urban areas with environmental restrictions. The aim of this study is to compare these two composting methods by assessing the efficiency of the process and the quality of the final composted product. The results of this study have shown the feasibility of both composting systems for rabbit manure management. It is necessary to optimise the design of the compost mixture in order to obtain a compost without any restrictions for agricultural use.

Keywords: circular economy, composting system, rabbit manure, vine pruning.

Introducción

La gestión de residuos orgánicos es un desafío creciente debido a su complejidad y al incremento en la implementación de normativas orientadas a reducir su acumulación en los vertederos. En este contexto, el compostaje se presenta como una estrategia eficiente y sostenible para el tratamiento de estos residuos. Se

trata de un proceso biológico natural en el cual los residuos orgánicos son degradados por la acción de microorganismos, promoviendo su estabilización e higienización. El objetivo principal del compostaje es la eliminación de patógenos y materiales no deseados, además de la reducción del volumen y peso de la materia orgánica, con el fin de obtener un producto final de alta calidad (Bernal *et al.*, 2009). Existen diversas técnicas para su implementación, destacándose dos enfoques principales: el sistema abierto y el sistema cerrado. El sistema abierto, conocido como windrow composting, es ampliamente utilizado debido a su bajo costo y simplicidad operativa. En este método, los residuos orgánicos se disponen en pilas al aire libre y son volteados periódicamente para garantizar una adecuada oxigenación y descomposición. La eficacia del proceso depende del control riguroso de parámetros como la humedad, la aireación y la temperatura, ya que estos factores pueden influir significativamente en la biodegradación de la materia orgánica (Bernal *et al.*, 2009). Por otro lado, el sistema cerrado (*in-vessel composting*), permite un control más preciso de las condiciones ambientales, lo que puede favorecer una descomposición más eficiente y rápida. Este sistema facilita la regulación de variables como la temperatura y la aireación, haciendo que el proceso sea más autónomo. Una de sus principales ventajas es que la materia orgánica permanece aislada del ambiente exterior, reduciendo la pérdida de nutrientes por lixiviación (Núñez *et al.*, 2022). El presente estudio compara ambos sistemas de compostaje utilizando como materias primas estiércol de cría intensiva de conejos y poda de sarmiento. Se evaluó la eficiencia de cada sistema estudiando parámetros de control del proceso como el perfil térmico, así como la evolución de los parámetros físico-químicos y químicos en cada una de las mezclas estudiadas.

Material y métodos

El ensayo fue realizado en la planta de compostaje CompoLab (EPSO-UMH), en el cual se establecieron dos sistemas para comparar los procesos de compostaje: uno utilizando el sistema de pilas en hileras abiertas con volteo mecanizado (windrow composting) y otro utilizando un sistema cerrado dinámico (*in-vessel composting*) mediante un tambor rotatorio horizontal con aireación pasiva (Rotorbuey®). Se elaboró una mezcla de residuos orgánicos utilizando estiércol de cría intensiva de conejos y poda de vid como agente estructurante de la mezcla en una proporción en peso 4:1 sobre materia fresca. Se realizó el compostaje de la mezcla (1440 kg de materia fresca) dentro de un sistema de compostaje mecanizado dinámico cerrado (AIV) y al mismo tiempo se elaboró una pila (2160 kg de materia fresca) de compostaje en abierto con volteo mecanizado (AWC).

Para asegurar una correcta aireación en ambos sistemas, ambos procesos fueron volteados semanalmente. Para el control del proceso, se registró a diario la temperatura cada 10 días en ambos sistemas mediante sondas de temperatura digitales portátiles (HOBO®). La duración del proceso de compostaje fue de 100 días. A lo largo de todo el proceso, se realizaron un total de 5 muestreos, controlando que la humedad se mantuviera en el rango óptimo. En el sistema abierto, las muestras se tomaron de diferentes puntos y profundidades de la pila, mientras que, en el sistema cerrado, las muestras fueron extraídas de varios puntos en la zona de carga del tambor. Se realizó la caracterización físico-química y química de los compost obtenidos, secando las muestras previamente en estufa con aire forzado a 40°C. Tras su secado, las muestras fueron molidas y tamizadas a 5 mm. Tanto en los materiales iniciales como en el resto de muestras se determinaron sus parámetros físico-químicos y químicos siguiendo los métodos descritos por Paredes *et al.* (2015).

Resultados y discusión

En la **Tabla 1** se muestran las principales características de los residuos iniciales utilizados en las mezclas de compostaje elaboradas para los dos sistemas de compostaje. Los residuos utilizados mostraron características muy diferentes, ya que el estiércol de conejo presentó un pH básico, valores altos de conductividad eléctrica, así como un mayor contenido de N que la poda de vid, que presentó un pH cercano a la neutralidad y una conductividad eléctrica bastante inferior a la del estiércol.

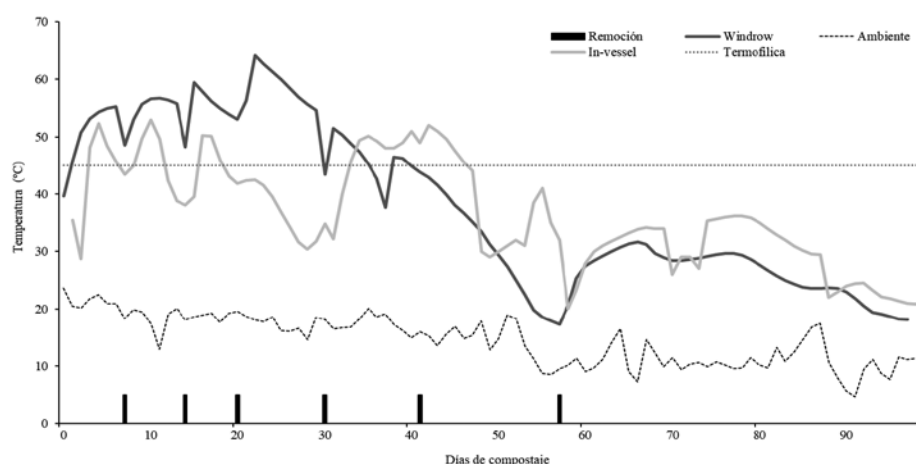
Tabla 1. Principales parámetros físico-químicos en los residuos iniciales utilizados.

	Estiércol de conejo	Poda de vid
pH	9,1	7,7
CE (dS/m)	9,81	1,23
COT (%)	36,5	35,4
NT (%)	2,85	1,02
C/N	12,8	34,7

CE: conductividad eléctrica; MOT: materia orgánica total; COT: carbono orgánico total; NT: nitrógeno total.

En la **Figura 1** se muestra la evolución de la temperatura en los dos sistemas de compostaje. En ambos sistemas de compostaje se alcanzaron rápidamente valores termófilos ($> 40^{\circ}\text{C}$) durante la primera semana de proceso. En el sistema en pila abierta (AWC) se observó una mayor duración y homogeneidad en la fase termófila, sin picos de temperatura, con valores máximos de temperatura en el rango de $60\text{--}65^{\circ}\text{C}$, sobre todo, tras los volteos. Sin embargo, en el sistema cerrado (AIV), la fase termófila fue más corta, alcanzando durante cortos periodos de tiempo temperaturas por encima de 50°C , probablemente debido a la falta de aireación que en el sistema abierto.

Figura 1. Evolución de las temperaturas en los dos sistemas de compostaje.



En la **Tabla 2** se muestra la evolución de los diferentes parámetros físico-químicos y químicos estudiados en los dos sistemas de compostaje. Tal como se muestra, la humedad se redujo durante el proceso en mayor medida en la pila en abierto, posiblemente debido a una mayor evaporación a consecuencia de la mayor duración e intensidad de la fase termófila en la mezcla compostada mediante el sistema en abierto. Los valores de pH y conductividad eléctrica fueron muy elevados en ambos sistemas, debido a los altos valores de estos parámetros que ya presentaba el estiércol de conejo utilizado, no observando una clara disminución de los mismos durante los procesos de compostaje, lo cual podrían suponer una importante limitación en el uso agrícola de estos compost. Este hecho ya fue observado por Paredes *et al.* (2015) en un experimento de compostaje utilizando el sistema de pila abierta con aireación forzada y control de la temperatura (sistema Rutgers). Sin embargo, los contenidos de materia orgánica en ambos sistemas mostraron un claro descenso durante los procesos de compostaje, lo cual es indicativo de un adecuado proceso de mineralización de la materia orgánica, fundamentalmente desarrollado durante la fase bio-oxidativa del proceso (Paredes *et al.*, 2015).

Tabla 2. Evolución de parámetros químicos y físico-químicos en los dos sistemas de compostaje

Muestras	Humedad (%)	pH	CE (dS/m)	MOT (%)
<i>Mezcla de compostaje con sistema abierto (AWC)</i>				
M1	70,5	9,1	8,8	75,0
M2	53,3	9,6	9,9	63,6
M3	55,9	9,7	10,8	64,0
M4	56,9	9,7	11,5	63,4
M5	56,5	9,5	8,7	64,0
<i>Mezcla de compostaje con sistema cerrado (AIV)</i>				
M1	67,5	9,1	8,8	75,0
M2	70,3	9,7	8,2	65,8
M3	67,0	9,8	8,7	61,1
M4	69,8	9,7	9,6	61,4
M5	70,4	9,6	8,8	62,7

Los resultados obtenidos en este estudio han mostrado la viabilidad de ambos sistemas de compostaje para la gestión de los estiércoles de conejo. Sin embargo, los altos valores de pH y, sobre todo, de conductividad eléctrica en los compost finales pueden ser limitantes para su uso agrícola, por lo que es necesario optimizar el diseño de la mezcla de compostaje, independientemente del sistema de compostaje utilizado, aumentando la proporción de material estructurante y/o incluyendo un tercer componente en la mezcla que

permita reducir los valores de pH y conductividad eléctrica en la mezcla inicial de compostaje, que permita obtener un compost sin ninguna restricción para su uso agrícola.

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por el Convenio de Colaboración de AGROCOMPOSTAJE entre la Generalitat Valenciana-UMH y el proyecto ref. PID2020-113228RB-I00 financiado por el MCIN/ AEI /10.13039/501100011033 NEOCOMP, así como por el contrato Santiago Grisolia (CIGRIS/2023/053) a la primera autora.

Bibliografía

- Bernal MP, Albuquerque JA, Moral R. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment: A review. *Bioresour. Technol.* 100: 5444-5453.
- Núñez T, Orden L, Suñer L, Palenzuela-Ruiz MV, Raya AR, Moral R. 2022. Tratamiento de residuos orgánicos urbanos en un sistema de compostaje cerrado. En: VII Jornadas Red Española de Compostaje. Salamanca, España. pp. 243-247.
- Paredes C, Pérez-Murcia MD, Bustamante MA, Pérez-Espinosa A, Agulló E, Moreno-Caselles J. 2015. Valorization of Mediterranean livestock manures: composting of rabbit and goat manure and quality assessment of the compost obtained. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46: 248-255.

Emisiones de gases de efecto invernadero en los procesos de compostaje de estiércoles de conejo: análisis de dióxido de carbono (CO_2), óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4)

Greenhouse gas emissions from rabbit manure composting: analysis of carbon dioxide (CO_2), nitrous oxide (N_2O) and methane (CH_4).

Manrique Córdoba N*, Sánchez-López JF, Orden L, Agulló E, Martínez-Sabater E, Sáez-Tovar JA, García-Rández A, Pérez-Murcia MD, Bustamante MA, Moral R

Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández, Carretera de Beniel Km 3,2, Orihuela, Alicante 03312, España.

*nmanrique@umh.es

Resumen

El cambio climático es uno de los mayores retos ambientales, contribuyendo los gases de efecto invernadero (GEI) de forma importante a su intensificación. En este sentido, la gestión de los residuos orgánicos mediante el compostaje permite la valorización de los mismos, pero también lleva asociada la emisión de GEIs en mayor o menor medida dependiendo del tipo de sistema y manejo realizados durante el proceso. El objetivo de este estudio fue comparar las emisiones de GEIs (CO_2 , N_2O y CH_4) y amoníaco (NH_3), durante el tratamiento de estiércol de conejo, en dos sistemas de compostaje: cerrado (*in-vessel composting*, AIV) y abierto (*windrow composting*, AWC). Los resultados obtenidos en este estudio han mostrado la variabilidad de ambos sistemas de compostaje en la emisión de GEIs. Se requieren futuras investigaciones para evaluar combinaciones de tecnologías de mitigación a lo largo de la cadena de gestión de los residuos orgánicos de la cunicultura.

Palabras clave: gases de efecto invernadero (GEIs), sistemas de compostaje, estiércol de conejo, poda de vid.

Abstract

Climate change is one of the greatest environmental challenges, and greenhouse gases (GHG) are a major contributor to its aggravation. In this sense, organic waste management through composting allows the recovery of organic waste, but it is also associated with GHG emissions to a greater or lesser extent, depending on the type of system and the management carried out during the process. The aim of this study was to compare the GHG emissions (CO_2 , N_2O and CH_4) and ammonia (NH_3) during the treatment of rabbit manure in two composting systems: closed (*in-vessel composting*, AIV) and open (*windrow composting*, AWC). The results of this study have shown the variability of the two composting systems in terms of GHG emissions. Future research is needed to evaluate combinations of abatement technologies along the organic waste management chain in rabbit production.

Keywords: greenhouse gases (GHGs), composting system, rabbit manure, vine pruning.

Introducción

El cambio climático es uno de los desafíos ambientales más urgentes de nuestra era, impulsado en gran medida por el aumento de las concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera. Dentro de estos, el dióxido de carbono (CO_2), el óxido nitroso (N_2O) y el metano (CH_4) desempeñan un papel crucial en el calentamiento global. En este contexto, la gestión sostenible de los residuos orgánicos del sector ganadero ha cobrado relevancia como estrategia para mitigar la generación de GEI y fomentar la economía circular.

El compostaje es una de las alternativas más empleadas para el tratamiento de residuos orgánicos, permitiendo su valorización a través de la producción de una enmienda orgánica de alta calidad. Sin embargo, este proceso biológico también está asociado a la emisión de GEI y compuestos volátiles como el amoníaco (NH_3) (García-Rández *et al.*, 2025). La cantidad de GEIs del proceso de compostaje está muy influenciada por el tipo de residuo y su composición (Yasmin *et al.*, 2022) cuyas concentraciones pueden variar en función del tipo de sistema utilizado y del manejo implementado durante el proceso de compostaje (Liu *et al.*, 2023).

En este estudio, se comparan las emisiones de CO_2 , N_2O , CH_4 y NH_3 durante el tratamiento de estiércol de conejo en dos sistemas de compostaje con diferentes: un sistema cerrado (*in-vessel composting*, AIV) y un sistema abierto (*windrow composting*, AWC). A través de esta comparación, se busca evaluar el impacto ambiental de cada método y aportar información valiosa para la optimización de la gestión de residuos orgánicos en la búsqueda de alternativas más sostenibles.

Material y métodos

El ensayo fue realizado en la planta de compostaje CompoLab (EPSO-UMH), en el cual se establecieron dos sistemas para comparar los procesos de compostaje: uno utilizando el sistema de pilas en hileras abiertas con volteo mecanizado (*windrow composting*) y otro utilizando un sistema cerrado dinámico (*in-vessel composting*) mediante un tambor rotatorio horizontal con aireación pasiva (Rotorbuey®).

Se elaboró una mezcla de residuos orgánicos utilizando estiércol de cría intensiva de conejos y troceado de poda de vid (4:1, p/p s.m.f), optimizando la relación carbono:nitrógeno (25-30:1) y la humedad (50-60%) para lograr un correcto tratamiento biológico. Se realizó el compostaje de la mezcla (1440 kg de materia fresca) dentro de un sistema de compostaje mecanizado dinámico cerrado (AIV) y al mismo tiempo se elaboró una pila (2160 kg de materia fresca) de compostaje con volteo mecanizado a campo (AWC). Para el monitoreo del proceso, se registró a diario la temperatura cada 10 días en ambos sistemas mediante una sonda de temperatura digital portátil (HOBO®). La duración del proceso de compostaje fue de 100 días en ambos sistemas.

Para el muestreo de las emisiones se utilizó la metodología de cámara cerrada ($3,5 \text{ dm}^3$) conectada a un analizador multigás de espectroscopia infrarroja fotoacústica (One, Gasera Ltd.). Se realizaron 8 muestreos a los 0, 15, 30, 45, 60, 85 y 100 días desde el inicio del proceso. Se calcularon para cada uno de los tratamientos evaluados los flujos de emisiones acumuladas de CO_2 , CH_4 , N_2O y NH_3 y el potencial de calentamiento global (GWP), ponderando las emisiones de acuerdo a los kg de mezcla de residuos compostada en cada tratamiento (**Fig. 1**). Se calcularon para cada uno de los tratamientos evaluados los flujos de emisiones acumulada de GEIs y NH_3 y el potencial de calentamiento global (GWP). Los datos se analizaron mediante ANOVA. Se realizó el ANOVA de las variables mediante un test post-hoc LSD Fisher ($\alpha = 0,05$) con software estadístico (Infostat, v.2020).

Figura 1. Medición de GEIs: a) en el sistema AIV, b) en el sistema AWC.



Resultados y discusión

Los resultados mostraron diferencias significativas en las emisiones de todos los gases evaluados entre los dos sistemas de compostaje utilizados (**Tabla 1**). Las menores emisiones de CH_4 se encontraron en el siste-

ma de pila abierta (AWC, $0,38 \text{ kg CH}_4 \text{ t}^{-1}$), respecto al compostaje en el sistema cerrado (AIV, $0,69 \text{ kg CH}_4 \text{ t}^{-1}$). Respecto a las emisiones de CO_2 , se observaron mayores emisiones en el sistema AWC ($262 \text{ kg CO}_2 \text{ t}^{-1}$), respecto al cerrado, AIV ($0,62 \text{ kg CH}_4 \text{ t}^{-1}$). Por otra parte, las emisiones gaseosas asociadas al ciclo del nitrógeno fueron menores en el sistema AIV ($0,34 \text{ kg NH}_3 \text{ t}^{-1}$) y $0,04 \text{ kg N}_2\text{O t}^{-1}$, frente a los $0,91 \text{ kg NH}_3 \text{ t}^{-1}$ y $0,32 \text{ kg N}_2\text{O t}^{-1}$ del sistema AWC. Respecto al GWP ($\text{kg CO}_{2\text{eq}}$), se obtuvieron diferencias significativas entre los sistemas de compostaje, siendo el sistema cerrado (AIV) el que menos emitió ($28,75 \text{ kg CO}_{2\text{eq}}$).

Tabla 1. Flujos acumulados estimados de GEIs y NH_3 durante el periodo de medición de 100 días

Tratamiento	$\text{kg NH}_3 \text{ t}^{-1}$	$\text{kg N}_2\text{O t}^{-1}$	$\text{kg CH}_4 \text{ t}^{-1}$	$\text{kg CO}_2 \text{ t}^{-1}$	GWP $\text{kg CO}_{2\text{eq}}$
AIV	$0,34 \pm 0,02 \text{ a}$	$0,04 \pm 0,01 \text{ a}$	$0,69 \pm 0,06 \text{ b}$	$62 \pm 7,3 \text{ a}$	$29 \pm 2,5 \text{ a}$
AWC	$0,91 \pm 0,04 \text{ b}$	$0,32 \pm 0,02 \text{ b}$	$0,38 \pm 0,04 \text{ a}$	$262 \pm 9,4 \text{ b}$	$98 \pm 4,9 \text{ b}$
p-valor	<0,0001	<0,0001	0,0002	<0,0001	<0,0001

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Los resultados obtenidos en este estudio han mostrado la variabilidad de ambos sistemas de compostaje en la emisión de GEIs. La elección de tecnologías de compostaje para la correcta gestión de estiércoles ganaderos no solo debe considerar la eficacia de la mitigación, sino también otros aspectos, como la factibilidad técnica, las normativas vigentes, la escalabilidad del proceso, las condiciones edafoclimáticas de la zona, la inversión requerida y el consumo energético para disminuir las emisiones y mejorar la calidad del aire. Se requieren futuras investigaciones para evaluar combinaciones de tecnologías de mitigación a lo largo de la cadena de gestión de los residuos orgánicos de la cunicultura.

Agradecimientos: este trabajo ha sido financiado por el Convenio de Colaboración de AGROCOMPOSTAJE entre la Generalitat Valenciana-UMH y el proyecto ref. PID2020-113228RB-I00 financiado por el MCIN/ AEI /10.13039/501100011033 NEOCOMP, así como por el contrato Santiago Grisolia (CIGRIS/2023/053) a la primera autora.

Bibliografía

- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat® versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- García-Rández A., Orden L., Marks EAN, Andreu-Rodríguez J, Franco-Luesma S, Martínez Sabater E, Saéz-Tovar JA, Pérez-Murcia MD, Agulló E, Bustamante MA, Cháfer M, Moral R. 2025. Monitoring of greenhouse gas emissions and compost quality during olive mill waste co-composting at industrial scale: the effect of N and C sources. *J. Waste Manag.* 193: 33-43.
- Liu Y, Tang R, Li L, Zheng G, Wang J, Wang G, Bao Z, Yin Z, Li G, Yuan J. 2023. A global meta-analysis of greenhouse gas emissions and carbon and nitrogen losses during livestock manure composting: Influencing factors and mitigation strategies. *Sci. Total Environ.* 885: 163900.
- Yasmin N, Jamuda M, Panda AK, Samal K, Nayak JK. 2022. Emission of greenhouse gases (GHGs) during composting and vermicomposting: measurement, mitigation, and perspectives. *Energy Nexus* 7: 100092.

Nuevos sensores para el control del amoníaco en naves de conejo

New sensors for ammonia monitoring in rabbit farms

Agea I^{*}, Serrano-Jara D¹, Monforte-Gómez B², Cortés-Bautista S², Argente MJ¹, Campíns-Falcó P², García ML¹

¹Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental, CIAGRO-UMH, Orihuela, España.

²Grupo MINTOTA, Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad de Valencia; Dr. Moliner, 50; 46100 Burjassot, España

*iagea@umh.es

Resumen

El control de los niveles de amoníaco en el interior de las instalaciones de conejos es necesario tanto para el bienestar de los animales como para conocer el nivel de exposición de amoníaco en los trabajadores. El grupo MINTOTA-UV de la Universidad de Valencia ha desarrollado sensores de amoníaco que han sido testados en granjas avícolas. El objetivo es demostrar si los sensores NH₃ControlFarm permiten medir y por lo tanto controlar la atmosfera de naves de conejos. Se colocaron los sensores tanto en nave de madres como de cebadero. Se determinó la concentración de amoníaco a partir de la aplicación SpectroFree-MINTOTA y también en el laboratorio por espectrofotometría de reflectancia difusa. En ambas naves, los sensores detectaron un nivel de amoníaco por debajo del límite de seguridad establecido en 10 ppmv. En conclusión, se ha demostrado la capacidad de los sensores NH₃ControlFarm para el control del nivel de amoníaco en naves de conejo.

Palabras clave: amoníaco, ambiente, granja, sensor, muestreo.

Abstract

Monitoring ammonia levels inside rabbit farming facilities is essential for both animal welfare and assessing workers' exposure. The MINTOTA-UV group from the University of Valencia has developed ammonia sensors previously tested in poultry farms. This study aims to determine whether NH₃ControlFarm sensors effectively measure and control the atmosphere in rabbit housing. Sensors were installed in both maternity and fattening units. Ammonia concentrations were measured using the SpectroFree-MINTOTA application and validated in the laboratory through diffuse reflectance spectrophotometry. Results showed that all sensors in both facilities detected ammonia levels below the established safety threshold of 10 ppmv. In conclusion, NH₃ControlFarm sensors have proven effective in monitoring ammonia levels in rabbit housing environments.

Keywords: ammonia, environment, farm, sensor, sampling.

Introducción

Las emisiones de amoníaco procedentes de la producción animal se deben a la relativa ineficiencia en el uso del nitrógeno por parte de los animales. En la producción de conejos, aproximadamente el 60% del nitrógeno ingerido se excreta en forma de orina y heces (Calvet *et al.*, 2008). Las concentraciones elevadas de amoníaco implican daños en las membranas mucosas de las vías respiratorias y, por tanto, una mayor susceptibilidad a las enfermedades respiratorias. El Código de Buenas Prácticas de producción de conejos indica que el nivel de amoníaco no debería ser superior a 10 ppmv. También hay establecidos límites de exposición profesional (INSST 2022): valor límite ambiental en exposición diaria (VLA-ED): 20 ppmv, 14 mg/m³ y valor límite ambiental en exposición de corta duración (VLA-EC): 50 ppmv, 36 mg/m³.

El grupo MINTOTA-UV ha desarrollado sensores de amoníaco que han sido testados en granjas avícolas (Campíns-Falcó *et al.*, 2015, 2018 y 2024; Ballester-Caudet *et al.*, 2021). El objetivo de este trabajo es demostrar si los sensores NH₃ControlFarm permiten medir y por lo tanto controlar la atmosfera de naves de

conejos de un forma sostenible y verde. Las soluciones actuales para la medición del NH₃ son caras o aportan información puntual o no son selectivas.

Material y métodos

El estudio se ha llevado a cabo desde abril de 2024 a mayo de 2025 en la granja de conejos de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández. Se colocaron sensores de distintos tipos tanto en la nave de madres (nave 1) con capacidad para 300 madres, como en la nave de cebo y reposición (nave2) (**Figura 1**). Se evaluó la concentración de amoniaco a partir de la aplicación SpectroFree-MINTOTA y por reflectancia difusa.

Resultados y discusión

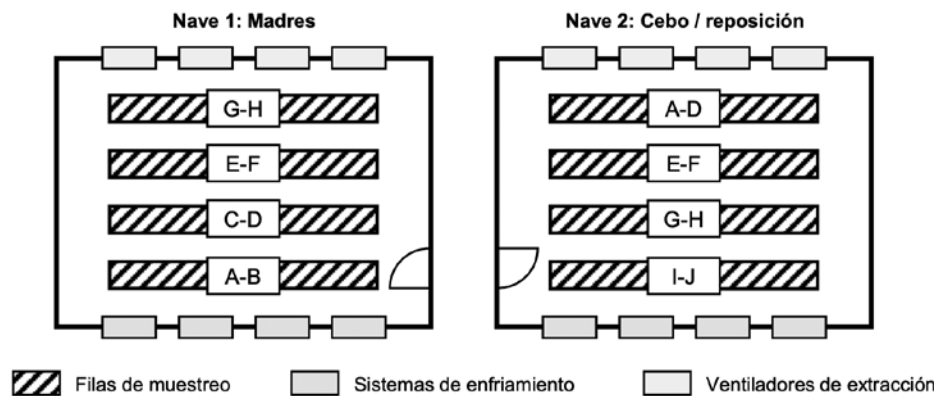
Se ha diseñado un plan de muestreo con el objetivo de disponer de información detallada sobre las atmósferas de amoniaco en las dos naves. La **Tabla 1** muestra los sensores expuestos que se corresponden con distintos composites nombrados como A, B, C, D, esponja (Campíns-Falcó *et al.*, 2015, 2018 y 2024; Ballester-Caudet *et al.*, 2021) y permiten distintos tiempos de exposición, también se indica en la tabla fecha y tiempo de exposición y tipo de muestreo. Además, se recogió aire de las naves en bolsas Tedlar y en bolsas que contenían los distintos composites para análisis en el laboratorio en el primer caso de la atmósfera para un estudio de confirmación de los resultados de concentración proporcionados por los sensores. El inserto de la **Tabla 1** muestra imágenes del ensayo en bolsa y en exposición directa en nave de los composites. Los sensores se expusieron en todas las filas indicadas en el diseño de las naves que se muestra en la **Figura 1**.

Tabla 1: Diseño de muestreo para las dos naves; n.a. no aplicable. Inserto muestra imágenes del ensayo en bolsa y en exposición directa en nave de los composites.

Fecha	Tipo de sensor (nº N1 y N2)	Tiempo exposición	Tipo de muestreo
11/04/2024	A (1 y 1), C (1 y 1), D (1 y 1)	24 h / 24 h / 4 h	Bolsa
	Esponja (4 y 4)	15 min	Bolsa y expuesto en la nave
	A (1 y 1)	24 h	Expuesto en la nave
	n.a.	n.a.	Bolsas Tedlar 2 L
14/04/2024	A (3 y 4) / C (4 y 4) / D (1 y 1) B (2 y 2)	24 h / 24 h / 4 h Hasta 19/04/2024	Expuesto en la nave
15/04/2024	A (4 y 4) / C (4 y 3) / D (2 y 2)	24 h / 24 h / 4 h	Expuesto en la nave
16/04/2024	A (2 y 2) / C (1 y 2) / D (2 y 2)	24 h / 24 h / 4h	Expuesto en la nave
17/04/2024	A (2 y 1) / C (1 y 1) / D (2 y 2)	24 h / 24 h / 4h	Expuesto en la nave
19/04/2024	B (3 y 4)	Hasta 26/04/2024	Expuesto en la nave
26/04/2024	B (3 y 2)	Hasta 06/05/2024	Expuesto en la nave
06/05/2024	B (2 y 2)	Hasta 13/05/2024	Expuesto en la nave
13/05/2024	n.a.	n.a.	n.a.



Figura 1. Esquema de las naves de conejos de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela.



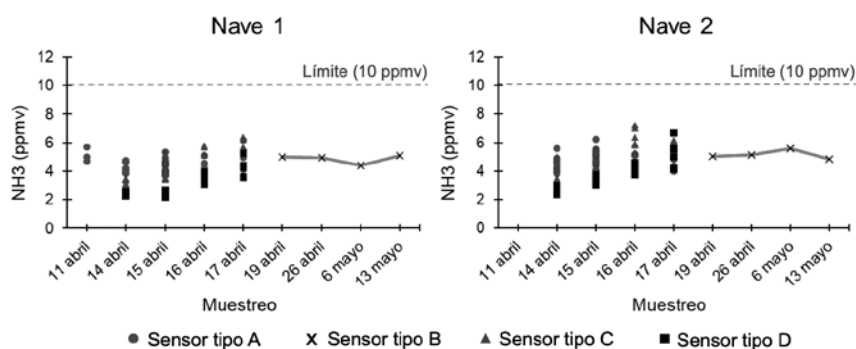
Se ha trabajado en la digitalización del sector, a través de una *app* Spectrofree desarrollada por el grupo MINTOTA-UV que permite estimar la concentración de amoníaco mediante el uso de un teléfono inteligente y transferir el valor obtenido a una base de datos. Se realiza una foto de la señal de un sensor sin respuesta (blanco), un estándar y la muestra y se evalúa la concentración de amoníaco a partir de la aplicación Spectro-Free-MINTOTA (**Figura 2**) y también en el laboratorio por espectrofotometría de reflectancia difusa.

Figura 2. Ejemplos de capturas de pantalla de resultados de amoníaco obtenidos a través de la aplicación SpectroFree/MINTOTA.



La **Figura 3** muestra los resultados obtenidos para amoníaco a partir de los sensores NH3ControlFarm para las dos naves. Se emplearon distintos composites para comprobar si la atmósfera se modificaba o no con los trabajos rutinarios, distribución y permanencia de los animales, los composites A y C se expusieron 24 horas, el D 4 horas y el B entre 5 y 7 días (**Tabla 1**). Las variaciones son las mostradas en la **Figura 3**, el último periodo sólo se muestreó con los sensores B que dan un valor promedio ya que se exponen entre 5 y 7 días. Las atmósferas de las dos naves están por debajo del límite de seguridad establecido en 10 ppmv. Se ha demostrado la capacidad y versatilidad de NH3ControlFarm en el muestreo de este tipo de naves.

Figura 3. Concentración de amoníaco medida en las dos naves muestreadas



Agradecimientos: este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y contó con el apoyo de MCIN con financiación de la Unión Europea Next Generation EU (PRTR-C17.11) y de la Generalitat Valenciana: AGROALNEXT 2022/019 y AGROALNEXT 2022/037. PID2021-124554NB-I00 MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER-Una manera de hacer Europa. PROMETEO-CIPROM/2023/46 Conselleria de Educació, Universidades y Empleo-Generalitat Valenciana B.M.-G. expresa su agradecimiento al MCIN contrato FPI (PRE2022-10216, proyecto PID2021-124554NB-I00) y S.C.-B. a AGROALNEXT 2022/019 por su contrato postdoctoral.

Bibliografía

- Ballester-Caudet A, Hakobyan L, Moliner-Martinez Y, Molins-Lagua C, Campíns-Falcó P. 2021. Ionic-liquid doped polymeric composite as passive colorimetric sensor for meat freshness as a use case. *Talanta* 223, 121778.
- Calvet S, Estellés F, Hermida B, Blumetto O, Torres A. 2008. Experimental balance to estimate efficiency in the use of nitrogen in rabbit breeding. *World Rabbit Sci* 16: 205-211.

Campíns-Falcó P, Monforte-Gómez M, Hakobyan L, Moliner-Martínez Y. 2024. Matrices tridimensionales porosas. Appl. No: P202331000, Titular: 273 UVEG. Informada favorablemente 23/10/2024 y formalizada la solicitud internacional PCT/ES2024/070742 con fecha 27/11/2024.

Campíns-Falcó P, Moliner-Martínez Y, Herráez-Herández R, Molins-Legua C, Verdú-Andrés J, Jornet-Martínez N. 2015. Dispositivo pasivo para la detección y/o determinación in situ de aminas en gases. Patente: ES-2519891_B2. Appl. no: P201300436. Titular: 273 UVEG. (Fecha concesión 26.02.2015). Passive device for the detection and/or determination in situ of amines in gases PCT/ES2014/000077, EP 14795283.2. (2020.03.25).

Campíns-Falcó P, Moliner-Martínez Y, Herráez-Herández R, Molins-Legua C, Verdú-Andrés J, Jornet-Martínez N. 2018. Dispositivo pasivo para la detección y/o determinación in situ de amoníaco en gases. Patente extendida: ES2619356B1. Appl. no: P201600032. Titular: 273 UVEG. (Fecha de concesión 08.01.2018).

PATOLOGÍA

Eficacia de la inmunidad pasiva frente a RHD en gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD

Perozo E, Fontseca M, Acal L, Gascón-Torrens S, March R, Sitjà M.

Adaptación genómica de *Staphylococcus aureus* en conejos: ¿Qué hace únicas a las cepas de conejo frente a las de otros animales?

Díaz-Méndez JF, Mascarós P, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Corpa JM, Viana D.

Explorando la diversidad de cepas y resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en granjas de conejos.

Mascarós P, Díaz-Méndez JF, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Viana D, Corpa JM.

Caso clínico de Enteropatía proliferativa por *Lawsonia intracellularis*. ¿Qué importancia tiene en cunicultura?

Sanz C, Sánchez del Cueto M

***Fusobacterium necrophorum* en cunicultura, caso clínico en una granja industrial**

Malo M

IA en cunicultura: prevención de patologías en un entorno de uso prudente de antibióticos.

Un caso práctico

Castellnou JE, Carvalho A, Marco M, Fernandez XM

La vacunación recurrente con MIXOHIPRA®-H no reduce la respuesta pre-existente de anticuerpos frente a mixomatosis

Baratelli M, Prieto-Quiroga C, García-Pariente C, Gullón-Álvarez J, Sánchez-del-Cueto-Losada M, Ramirez-Oliveras S, Gascon-Torrens S

Evaluación de la eficacia de YURVAC® RHD frente a una cepa de RHDV2 altamente virulenta aislada recientemente

Perozo E, Fontseca M, Nadal G, Montbrau C, Gascon-Torrens S, March R, Sitjà M.

Evidencia serológica de una vacunación efectiva con YURVAC RHD en 53 conejas, de diferentes grupos de edad, en una granja comercial

Pinto FF, Abrantes J, Ferreira PG, Lopes AM, Pereira L, Marcos R

Eficacia de la inmunidad pasiva frente a RHD en gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD

Efficacy of the passive immunity against RHD in rabbit kits when breeding does are vaccinated with YURVAC® RHD

Perozo E, Fontseca M, Acal L, Gascón-Torrens S*, March R, Sitjà M.

¹HIPRA, Avinguda de la Selva 135, 17170, Amer, Spain

*sandra.gascon@hipra.com

Resumen

YURVAC® RHD es una vacuna recombinante indicada para la inmunización activa de conejos a partir de los 30 días de edad, para reducir la mortalidad de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHD) causada por el virus RHD (RHDV) clásico y las cepas variantes (RHDV2), incluidas las cepas altamente virulentas. Se evaluó la inmunidad pasiva contra RHD en gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD. El estudio se llevó a cabo mediante la administración de una única dosis por vía subcutánea a las conejas. La eficacia se evaluó mediante un desafío experimental con RHDV2 en la descendencia de las conejas vacunadas, a los 30 días de vida. Los resultados obtenidos en este estudio respaldan completamente la eficacia de la inmunidad pasiva en la reducción de la mortalidad causada por RHDV2 en la descendencia de las conejas vacunadas con YURVAC® RHD.

Palabras clave: RHD, RHDV, RHDV2, inmunidad pasiva, gazapos.

Abstract

YURVAC® RHD is a recombinant vaccine intended for active immunisation of rabbits from the age of 30 days to reduce RHD mortality caused by the classical RHD virus and variant strains (RHDV2), including highly virulent strains. The passive immunity against Rabbit Haemorrhagic Disease (RHD) of young rabbits acquired from does vaccinated with YURVAC® RHD was evaluated. The study was carried out by using the subcutaneous route and administering one single dose to does. Efficacy was evaluated by means of an experimental challenge with RHDV2, performed in the offspring of the vaccinated does, at 30 days of age. The results obtained in this trial fully support the efficacy of the passive immunity in reducing mortality caused by RHDV2 in the offspring of breeding does vaccinated with YURVAC® RHD.

Keywords: RHD, RHDV, RHDV2, passive immunity, rabbit kits

Introducción

La cepa clásica del RHDV es un calicivirus del género *Lagovirus* que causa la Enfermedad Hemorrágica del Conejo (RHD) en conejos europeos adultos (*Oryctolagus cuniculus*). Los viriones son de pequeño tamaño (35-40 nm de diámetro) y no están envueltos. La cápside, que protege la molécula de ARN monocatenario de sentido positivo (ssRNA+), está compuesta por 90 dímeros de la proteína de la cápside llamada VP60. Más recientemente, en 2010, se identificó en Francia una variante antigénicamente diferente (RHDV2). Este virus presentó una identidad de secuencia de la proteína de la cápside de aproximadamente el 80 % con RHDV y fue capaz de causar RHD tanto en conejos vacunados como en gazapos jóvenes (Le Gall-Reculé G, 2013).

YURVAC® RHD es una vacuna recombinante destinada a la inmunización activa de conejos a partir de los 30 días de edad para reducir la mortalidad por RHD causada por el virus clásico de la RHD y por cepas variantes (RHDV2), incluidas las cepas altamente virulentas.

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de la inmunidad pasiva contra la RHD en gazapos adquirida de conejas vacunadas con YURVAC® RHD. La protección se demostró mediante un desafío experimental con la cepa de RHDV2.

Material y métodos

En este estudio se incluyeron quince conejas gestantes y se distribuyeron en tres grupos: los grupos A y B fueron vacunadas por vía subcutánea con YURVAC® RHD siguiendo dos programas de administración diferentes (aproximadamente 1 año y 2 meses antes del inicio del estudio, respectivamente). A partir de estas conejas, se seleccionaron un total de 25 gazapos de cada grupo y se distribuyeron en tres grupos: un grupo de 25 gazapos procedentes de conejas vacunadas 300 días antes del desafío experimental (Grupo A), un grupo de 25 gazapos procedentes de conejas vacunadas 84 días antes del desafío experimental (Grupo B) y un grupo control de 25 gazapos procedentes de conejas que recibieron placebo (PBS). Los gazapos fueron incluidos en el estudio a los 30 días de edad (Día 0) y, con el fin de demostrar la protección de la descendencia a través de los anticuerpos adquiridos pasivamente por la vacunación con YURVAC® RHD, los 75 gazapos fueron desafiados por vía intramuscular con la cepa virulenta de RHDV2 a los 30 días de edad.

Se registraron los signos clínicos generales y la mortalidad dos veces al día durante los 14 días posteriores al desafío. Se recolectaron muestras de hígado de los animales fallecidos para determinar la presencia de RHDV2 y confirmar la causa de la muerte.

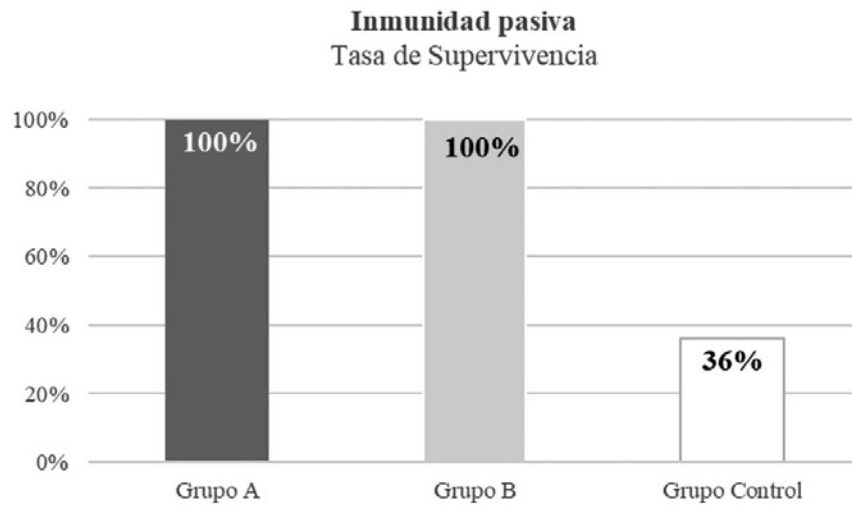
Se tomaron muestras de sangre de las conejas reproductoras y de los gazapos en diferentes momentos del estudio para evaluar el desarrollo de anticuerpos contra RHDV2 mediante la técnica de inhibición de la hemaglutinación. En las conejas, se tomaron muestras de sangre el día de la vacunación y en el momento del parto. En los gazapos, se recogieron muestras de sangre el día del desafío (día 0) y 14 días después del desafío para evaluar la respuesta serológica.

Para demostrar la eficacia de la inmunidad pasiva transmitida a la descendencia, debían observarse diferencias significativas en la mortalidad entre los gazapos procedentes de conejas vacunadas y los procedentes de conejas que no fueron vacunadas.

Resultados y discusión

Los resultados de mortalidad mostraron una tasa de supervivencia del 100% en los grupos A y B (gazapos procedentes de conejas reproductoras vacunadas 300 días y 2 meses antes del desafío) y una tasa de supervivencia del 36% en el grupo control. La tasa de mortalidad total observada en el grupo de control fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en comparación con la de los gazapos con inmunidad maternal, y no se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre los gazapos nacidos de conejas reproductoras vacunadas. Todas las muertes en el grupo control ocurrieron entre 24 y 48 horas después del desafío (**Figura 1**).

Figura 1. Porcentaje de supervivencia de los gazapos procedentes de conejas vacunadas, tras el desafío con RHDV2.

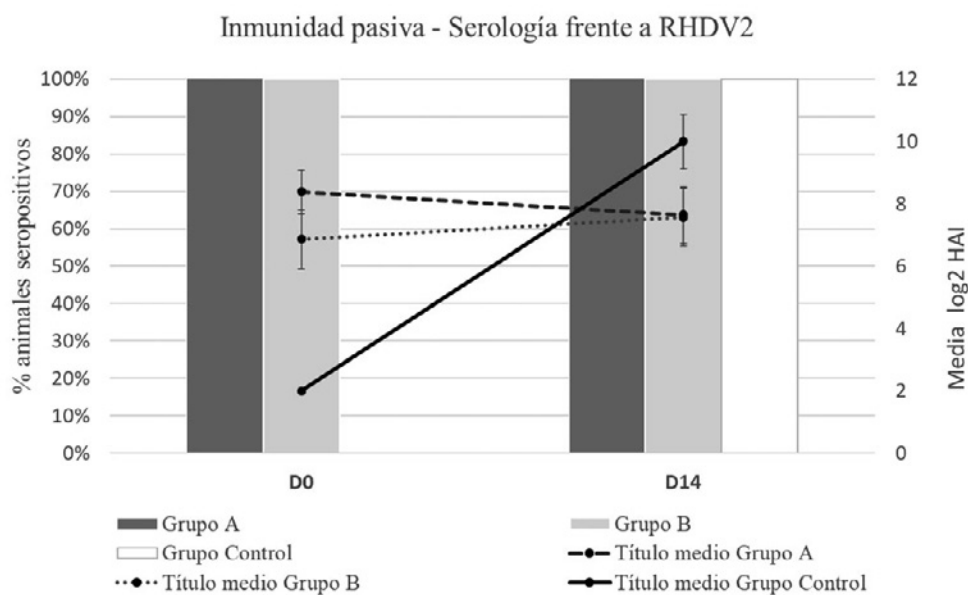


Se recogieron muestras de hígado y se analizaron para detectar la presencia de RHDV2. En el grupo de control, todas las muertes fueron confirmadas como positivas a RHDV2, mientras que no se registraron muertes en los grupos con inmunidad pasiva.

No se observaron signos clínicos en ninguno de los animales durante el período de desafío.

Todas las conejas reproductoras incluidas en el estudio estaban libres de anticuerpos contra RHDV y RHDV2 antes de la vacunación. Todas las conejas vacunadas dieron positivo el día del parto. Se recogieron muestras de sangre de todos los gazapos el día del desafío y 14 días después (sólo de los animales supervivientes). Los resultados serológicos obtenidos muestran que los gazapos procedentes de conejas vacunadas con YURVAC® RHD presentaban anticuerpos contra RHDV2 antes del desafío, mientras que todos los gazapos procedentes de conejas no vacunadas fueron seronegativos frente a RHDV2 hasta el desafío. Los títulos serológicos detectados en los supervivientes del grupo control confirman que el desafío se llevó a cabo correctamente (**Figura 2**).

Figura 2. Respuesta serológica y porcentaje de seropositivos frente a RHDV2 en los gazapos.



Estos resultados muestran que la vacunación de las conejas reproductoras con YURVAC® RHD induce una respuesta inmunológica en la descendencia en términos de titulación de anticuerpos y animales seropositivos. En conclusión, la vacunación de las conejas reproductoras con YURVAC® RHD induce una inmunidad pasiva contra RHDV2 en su descendencia, protegiendo a los gazapos no vacunados contra RHDV2 a los 30 días de edad.

Agradecimientos: los autores desean agradecer a los técnicos de laboratorio, veterinarios y cuidadores de animales de CEYC y al Departamento de I+D de HIPRA.

Bibliografía

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 S., Le Normand B., Capucci L. 2013. Emergence of a new lagovirus related to Rabbit Haemorrhagic Disease Virus. *Vet Res.*, 44, 81.

Adaptación genómica de *Staphylococcus aureus* en conejos: ¿Qué hace únicas a las cepas de conejo frente a las de otros animales?

Genomic adaptation of Staphylococcus aureus in rabbits: What makes rabbit strains unique compared to other animals?

Díaz-Méndez JF*, Mascarós P, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Corpa JM, Viana D.

Grupo de investigación "Patología y Sanidad Animal", PASAPTA, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, c/ Assegadors nº 2, 46115 Alfara del Patriarca, Valencia, Spain .

*jose.diazmendez@uchceu.es

Resumen

Staphylococcus aureus es un patógeno de gran impacto en la ganadería, causando pérdidas económicas significativas debido a infecciones en rumiantes, porcinos, aves y conejos. En este estudio, se analizaron bioinformáticamente 1889 cepas de *S. aureus* aisladas de seis especies animales. Se identificaron 105 secuencias tipo (STs) con una distribución variable entre hospedadores. ST398 fue el clon más frecuente y se encontró en bovinos, porcinos, conejos y aves, sugiriendo una expansión epidemiológica reciente. Los conejos presentaron la mayor diversidad genética, con 34 STs únicos, destacando los clones ST3764 y ST121, lo que sugiere una adaptación específica de *S. aureus* a este hospedador. El análisis de genes de resistencia antimicrobiana (AMR) mostró que conejos y cerdos albergaban la mayor carga de genes AMR, con una prevalencia elevada de resistencia a sulfonamidas y fenicoles en conejos. Se detectó la presencia exclusiva del sistema CRISPR-Cas tipo III-A en cepas de conejo, lo que sugiere una posible adaptación a presiones selectivas específicas, como fagos o plásmidos. Además, los genes de la cápsula tipo 8 estuvieron altamente representados en conejos (~87%), lo que podría favorecer su persistencia en este hospedador. Estos hallazgos resaltan la diversidad y plasticidad genética de *S. aureus* en distintos hospedadores y subrayan la importancia de los conejos como reservorios de resistencia y virulencia, con implicaciones en salud animal y bioseguridad.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, virulencia, AMR, MLST, pangenoma.

Abstract: *Staphylococcus aureus* is a major pathogen in livestock, causing significant economic losses due to infections in ruminants, pigs, poultry, and rabbits. In this study, 1,889 *S. aureus* strains isolated from six animal species were bioinformatically analyzed. A total of 105 sequence types (STs) were identified, with variable distribution among hosts. ST398 was the most frequent and was detected in cattle, pigs, rabbits, and poultry, suggesting a recent epidemiological expansion. Rabbits exhibited the highest genetic diversity, with 34 unique STs, particularly clones ST3764 and ST121, indicating a specific adaptation of *S. aureus* to this host. Antimicrobial resistance genes (AMR) analysis revealed that rabbits and pigs harbored the highest AMR gene burden, with a notable prevalence of sulfonamide and phenicol resistance genes in rabbits. The exclusive presence of the CRISPR-Cas type III-A system in rabbit isolates suggests an adaptation to specific selective pressures, such as phages or plasmids. Additionally, capsule type 8 genes were highly prevalent in rabbits (~87%), potentially contributing to bacterial persistence in this host. These findings highlight the genetic diversity and adaptability of *S. aureus* across different hosts, emphasizing the role of rabbits as reservoirs of antimicrobial resistance and virulence genes, with significant implications for animal health and biosecurity.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, virulence, AMR, ST, pangenome.

Introducción

Staphylococcus aureus es un patógeno de gran impacto en la ganadería, causando mastitis en rumiantes, infecciones en cerdos y pododermatitis en aves, generando pérdidas económicas en la producción ganadera (Haag et al. 2019).

En conejos, *S. aureus* genera diversas patologías, reduciendo la productividad y aumentando la mortalidad. Su adaptación se asocia con mutaciones en el gen *dltB* (Viana et al., 2015), favoreciendo la persistencia y evasión inmune. Factores de virulencia como la α -hemolisina y PVL agravan la enfermedad. Su gran plasticidad genética, mediada por elementos genéticos móviles (MGEs), facilita la adaptación a distintos hospedadores y la resistencia antimicrobiana.

Los objetivos de este trabajo son caracterizar la diversidad genética de *S. aureus* en conejos mediante la comparación con aislados de otros animales de granja, mediante herramientas bioinformáticas, así como detectar características genéticas específicas que podrían estar relacionadas con factores genéticos asociados a la adaptación y expansión de linajes.

Material y métodos

Se analizaron 1889 secuencias de cepas de *S. aureus* aisladas de animales de granja depositadas en bases de datos públicas, concretamente, 302 secuencias aisladas en bovinos, 995 en porcinos, 327 en conejos, 209 en aves, 32 en caprinos y 23 en ovinos. Las secuencias fueron sometidas a controles de calidad y limpiadas con Fastp. El ensamblaje y anotación se realizó con Shovill y BAKTA, respectivamente. Se determinó la diversidad genética mediante MLST y se identificaron genes de resistencia y virulencia con AMRFinderPlus y VFDB, respectivamente. La tipificación del SCCmec se hizo con SccmecFinder. El análisis del pangenoma se llevó a cabo con Panaroo y la filogenia se construyó con IQ-TREE.

Resultados y discusión

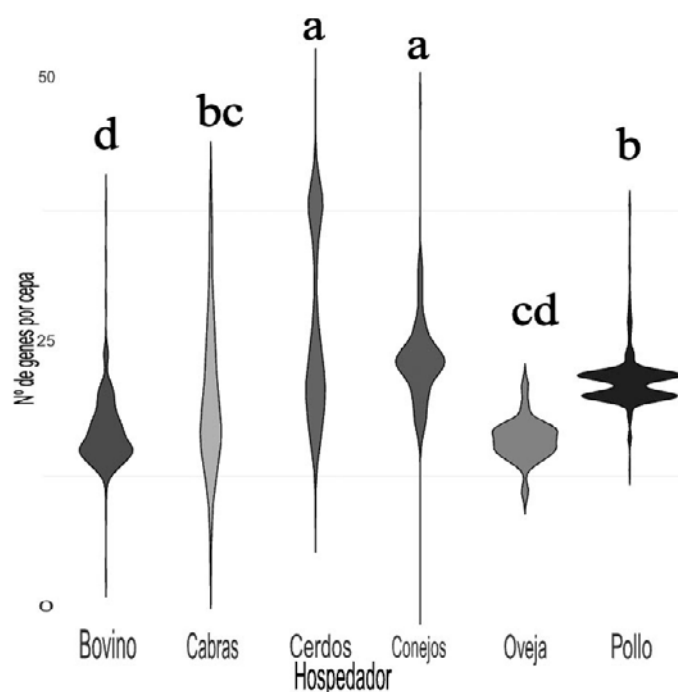
Se identificaron 105 tipos de secuencia (STs) de *S. aureus* en seis especies animales de granja, con una distribución variable entre hospedadores (**Tabla 1**). Algunos STs fueron compartidos entre especies, como ST398, presente en todos los hospedadores, y ST133, común en rumiantes. Los conejos mostraron una alta diversidad genética con 34 STs únicos, siendo ST3764 y ST121 los más frecuentes, sugiriendo una adaptación específica de *S. aureus* a este hospedador, lo que podría influir en la patogénesis y en la resistencia antimicrobiana dentro de las explotaciones cunícolas. Smyth et al. (2009) reportaron que ST133 es exclusivo de rumiantes, lo que coincide con su alta presencia en rumiantes en este estudio. También encontraron que *S. aureus* en conejos y aves es genéticamente más similar a cepas humanas, lo que respalda la alta diversidad observada en conejos.

Tabla 1. Distribución de STs de *Staphylococcus aureus* en diferentes hospedadores de granja.

Hospedador	STs identificados	STs mayoritarios
Bovino	ST1, ST8, ST15, ST20, ST22, ST69, ST71, ST97, ST115, ST126, ST132, ST133, ST151, ST152, ST243, ST351, ST352, ST398, ST464, ST479, ST504, ST522, ST580, ST672, ST737, ST742, ST1687, ST2187, ST2219, ST2270, ST2453, ST2454, ST2459, ST3140, ST4968, ST4976, ST5098, ST5360, ST7900, ST7903, ST7904, ST8495	ST398, ST8, ST1, ST133
Caprino	ST1, ST5, ST6, ST15, ST133, ST398, ST522, ST1729, ST2057, ST2077, ST6082, ST6091, ST6092, ST6093	ST133
Porcino	ST1, ST5, ST9, ST49, ST59, ST184, ST185, ST193, ST239, ST398, ST1281, ST1376, ST3597, ST5051, ST6553, ST6554, ST6555, ST6759, ST7001, ST7002, ST7095	ST398, ST7002, ST6759
Cunícola	ST1, ST15, ST45, ST96, ST121, ST146, ST398, ST407, ST425, ST1945, ST2855, ST2951, ST3764, ST4774, ST4998, ST5001, ST5993, ST6064, ST6083, ST7763, ST7853, ST7854, ST7877, ST8008, ST8009, ST8010, ST8144, ST8727, ST8757, ST8758, ST8759, ST8760, ST8763	ST3764, ST121, ST146
Avícola	ST1, ST5, ST30, ST398, ST814	ST398, ST5
Ovino	ST59, ST133, ST398, ST425, ST700, ST2011, ST2490, ST6296	ST133, ST398

En cuanto a los genes de resistencia antimicrobiana (AMR), los conejos presentaron la mayor diversidad (**Fig. 1**), seguidos por los cerdos, lo que indica una amplia heterogeneidad en los mecanismos de resistencia dentro de estos hospedadores, reflejando que las cepas procedentes de cerdos y conejos albergan una mayor cantidad de genes AMR en comparación con las de rumiantes y aves. En cuanto a los antibióticos frente a los que mostraron más resistencia, los conejos mostraron una prevalencia destacada de genes de resistencia a sulfonamidas y fenicoles, mientras que la resistencia a β -lactámicos estuvo subrepresentada en comparación con otros hospedadores. Estos hallazgos coinciden con el estudio de Attili *et al.* (2020), que reportaron una alta presencia de resistencia antimicrobiana en *S. aureus* aislados en conejos, lo que respalda la idea de que este hospedador actúa como un reservorio de genes AMR. En esta misma línea, Ramos y Cunha (2024) identificaron una fuerte asociación entre la resistencia antimicrobiana de aislados procedentes de animales silvestres y la exposición a ambientes agrícolas, lo que sugiere que pueden adquirir genes de resistencia mediante la transferencia de MGEs. Esto podría indicar que la resistencia antimicrobiana está influenciada por factores ambientales y la interacción con otros hospedadores.

Figura 1. Distribución media de genes de AMR en *S. aureus* aislados de diferentes hospedadores. Las letras indican grupos estadísticamente distintos según Kruskal-Wallis y prueba de Dunn ($P \leq 0,05$); hospedadores con letras diferentes presentan diferencias significativas.

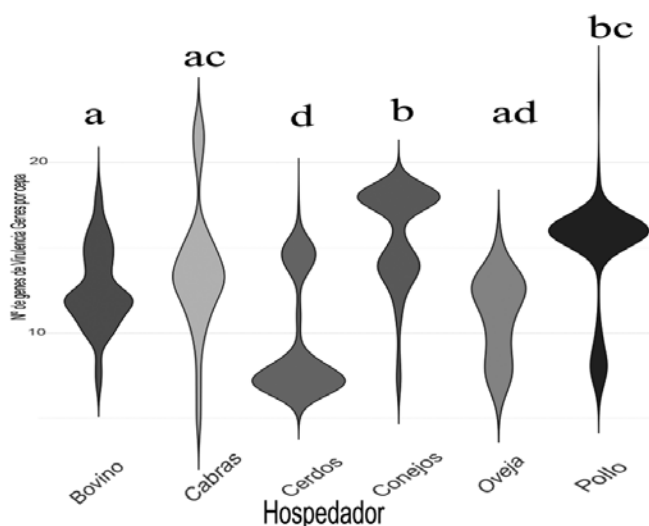


El análisis de MGEs demostró que, en conejos, el 33% de los genes de resistencia plasmídicos estaban asociados a tetraciclinas, seguidos por los genes de resistencia a macrólidos, junto con las lincosamidas y las estreptograminas B (22%) y aminoglucósidos (16%). Se detectaron genes relacionados con bombas de eflujo, resistencia a trimetoprima, β -lactámicos y metales en menor proporción. Cabe destacar que los genes de resistencia a sulfonamidas fueron exclusivos de este hospedador. Adicionalmente, la detección del gen *mecC* se limitó a cepas aisladas de conejos, con nueve cepas portando simultáneamente *mecA* y *mecC*, lo que sugiere una dinámica particular en la evolución de la resistencia a meticilina en conejos. Por otro lado, Silva *et al.* (2024) describieron mecanismos de transferencia de genes de resistencia en *E. coli* de conejos, como plásmidos y transposones, lo que sugiere que *S. aureus* podría compartir estrategias similares para la diseminación de resistencia en este hospedador.

En cuanto a virulencia, los conejos y las aves destacaron como los hospedadores con mayor cantidad de genes de virulencia por cepa, mientras que los cerdos mostraron significativamente menos genes en comparación con bovinos, caprinos, conejos y aves (**Fig. 2**). Además, los conejos exhibieron una mayor carga de genes de virulencia que ovinos y cerdos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre ciertas especies, como bovinos y caprinos o conejos y aves. A pesar de las diferencias en la cantidad total de genes de virulencia, las categorías funcionales de estos genes fueron similares entre hospedadores. Aunque hubo

cierta variabilidad en citotoxinas y factores de evasión inmune, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, lo que sugiere que, aunque la carga de genes varía entre hospedadores, los perfiles funcionales de virulencia son relativamente conservados.

Figura 2. Distribución media de genes de virulencia en *S. aureus* aislados de diferentes hospedadores. Las letras indican grupos estadísticamente distintos según Kruskal-Wallis y prueba de Dunn ($P \leq 0.05$); hospedadores con letras diferentes presentan diferencias significativas.



Esto coincide con Sezzi *et al.* (2024), quienes reportaron una alta variabilidad de virulencia en *S. aureus* de mastitis ovina, sugiriendo que los rumiantes son reservorios virulentos. Bruce *et al.* (2022) encontraron que genes como *tsst-1*, *sea* y *sec* están ampliamente distribuidos entre especies, respaldando la conservación de mecanismos de patogénesis. Además, Beshiru *et al.* (2024) reportaron una alta carga de genes de virulencia en *S. aureus* resistente a meticilina en bovinos, coincidiendo con su capacidad para albergar cepas persistentes.

Finalmente, el análisis del pangenoma reflejó que todos los hospedadores compartían un total de 1747 genes, mientras que 3149 genes diferenciaban una cepa de otra. Por ejemplo, en los clones de conejo del ST96 y ST2855, se encontró que genes del sistema CRISPR-Cas tipo III-A estaban exclusivamente presentes en cepas aisladas de este hospedador, sugiriendo una adaptación específica de *S. aureus*, posiblemente relacionada con la defensa MGEs específicos. Además, los genes *cap8H*, *cap8I*, *cap8J* y *cap8K* estuvieron altamente representados en las cepas de conejo, mientras que no se detectaron en otros hospedadores, lo que indica que podrían desempeñar un papel clave en la adaptación y persistencia en este hospedador.

En conclusión, este estudio revela una alta diversidad genética de *S. aureus* en animales de granja, con los conejos como el hospedador con mayor variabilidad y carga de resistencia antimicrobiana y genes de virulencia. Se detectó la presencia exclusiva del sistema CRISPR-Cas tipo III-A y de los genes de la cápsula tipo 8 en cepas de conejo, sugiriendo una adaptación específica. Estos hallazgos destacan el papel de los conejos como reservorios de *S. aureus* con implicaciones en evolución, resistencia y patogénesis.

Agradecimientos: este proyecto está financiado por la Universidad CEU Cardenal Herrera (INDI22/11), el Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-117897RB-I00) y la Generalitat Valenciana (Prometeo CI-PROM-2021-053). Los contratos predoctorales por la Universidad CEU Cardenal Herrera. Agradecer a ganaderos, veterinarios y Exopol S.L. por su colaboración.

Bibliografía

- Attili AR, Bellato A, Robino P, Galosi L, Papeschi C, Rossi G, Fileni E, Linardi M, Cuteri V, Chiesa F, Nebbia P. 2020. Analysis of the antibiotic resistance profiles in methicillin-sensitive *S. aureus* pathotypes isolated on a commercial rabbit farm in Italy. *Antibiotics* 9:673.
- Beshiru A, Igbinosa IH, Akinnibosun O, others. 2024. Characterization of resistance and virulence factors in livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep* 14:13235.

- Bruce SA, Smith JT, Mydosh JL, others. 2022. Shared antibiotic resistance and virulence genes in *Staphylococcus aureus* from diverse animal hosts. *Sci Rep* 12:4413.
- Haag AF, Fitzgerald JR, Penadés JR. 2019. *Staphylococcus aureus* in animals. *Microbiol Spectr*.
- Sezzi E, Fanelli R, Gobbi D, Scandurra P, Mannucci V, Usai I, Ragionieri G, Mezher Z, Fichi G. 2024. An investigation of virulence genes of *Staphylococcus aureus* in autologous vaccines against sheep mastitis. *Animals* 14:3172.
- Ramos B, Cunha MV. 2024. The mobilome of *Staphylococcus aureus* from wild ungulates reveals epidemiological links at the animal-human interface. *Environ Pollut* 356:124241.
- Silva A, Silva V, Tavares T, López M, Rojo-Bezares B, Pereira JE, Falco V, Valentão P, Igrejas G, Sáenz Y, Poeta P. 2024. Rabbits as a reservoir of multidrug-resistant *Escherichia coli*: clonal lineages and public health impact. *Antibiotics*.
- Smyth DS, Feil EJ, Meaney WJ, Hartigan PJ, Tollersrud T, Fitzgerald JR, Enright MC, Smyth CJ. 2009. Molecular genetic typing reveals further insights into the diversity of animal-associated *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol* 58:1343–1353.
- Viana D, Comos M, McAdam PR, Ward MJ, Selva L, Guinane CM, González-Muñoz BM, Tristan A, Foster SJ, Fitzgerald JR, Penadés JR. 2015. A single natural nucleotide mutation alters bacterial pathogen host tropism. *Nat Genet* 47:361–366.

Explorando la diversidad de cepas y resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en granjas de conejos

Exploring strain and antimicrobial resistance diversity of Staphylococcus aureus in rabbit farms

Mascarós P*, Díaz-Méndez JF, Martínez-Seijas C, Arnau A, Selva L, Viana D, Corpa JM.

Biomedical Research Institute, PASAPTA-Pathology Group, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, CEU Universities, C/Tirant lo Blanc 7, Alfara del Patriarca, 46115 Valencia, Spain.

*patricia.mascarosnunez@uchceu.es

Resumen:

En este trabajo, se examinaron 125 muestras de *Staphylococcus aureus* obtenidas de conejos y de trabajadores de las granjas en contacto estrecho con ellos. Se identificaron 22 tipos de secuencias (STs), los cuales pertenecían a 11 complejos clonales (CCs). Los CCs más frecuentes en conejos fueron el CC121 y el CC96, mientras que en los humanos predominó el CC96, seguido por el CC121 y el CC398. En 17 de las 37 granjas analizadas, se detectaron trabajadores que portaban cepas con los mismos CCs y STs que los conejos de esas instalaciones y, en dos de ellas, su identidad nucleotídica media (ANI) fue del 100%. Además, todas las cepas humanas del CC121 portaban la secuencia del *dltB* típica de conejos, lo que sugiere una posible transmisión desde los animales. El análisis de resistencia a los antimicrobianos mostró que, en 5 de los 9 grupos antimicrobianos evaluados, no hubo diferencias significativas entre ambas poblaciones, lo que sugiere una posible transferencia de cepas o de material genético. Además, se observó que un mayor porcentaje de cepas resistentes a una familia antimicrobiana estaba ligado a una mayor diversidad de genes de resistencia, lo que podría facilitar su persistencia, diseminación y transmisión entre hospedadores.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, conejos, humanos, identidad nucleotídica media, resistencia antibiótica.

Abstract:

In this study, 125 *Staphylococcus aureus* samples were analyzed from rabbits and farm workers in close contact with them. A total of 22 sequence types (STs) were identified, belonging to 11 clonal complexes (CCs). The most frequently detected CCs in rabbits were CC121 and CC96, while in humans, CC96 was the most prevalent, followed by CC121 and CC398. In 17 out of the 37 farms analyzed, workers carried strains with the same CCs and STs as the rabbits on the same farms, and in two cases, their average nucleotide identity (ANI) was 100%. Additionally, all human strains belonging to CC121 carried the *dltB* sequence characteristic of rabbits, suggesting a possible transmission from the animals. The antimicrobial resistance analysis revealed no significant differences in 5 of the 9 antimicrobial groups tested between both populations, indicating a potential transfer of strains or genetic material. Furthermore, a higher proportion of resistant strains within a specific antimicrobial family was associated with greater diversity of resistance genes, which could enhance their persistence, dissemination, and transmission among hosts.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, rabbits, humans, average nucleotide identity, antimicrobial resistance.

Introducción

Staphylococcus aureus es una bacteria oportunista capaz de causar diversas enfermedades en conejos, como mastitis, pododermatitis y abscesos. Sin embargo, se trata de un patógeno con capacidad de adapta-

ción, que puede afectar y transmitirse entre múltiples hospedadores. Investigaciones previas han señalado que los seres humanos juegan un papel clave en esta transmisión. *S. aureus* es capaz de adaptarse mediante modificaciones genómicas, como la transferencia horizontal de genes y la diversificación genética (Richardson *et al.* 2018).

Este microorganismo posee, además, una notable capacidad para desarrollar resistencia a los antibióticos en cortos períodos de tiempo, lo que dificulta la búsqueda de tratamientos efectivos. Su naturaleza multirresistente limita las opciones terapéuticas disponibles y favorece la rápida propagación de genes de resistencia, lo que representa un desafío para el control de las infecciones (Aires-de-Sousa 2017).

En este contexto, el presente estudio analiza la diversidad genética de *S. aureus* en diversas granjas de conejos en España, así como su relación con aislados humanos procedentes de las mismas instalaciones. El objetivo es evaluar la homología entre cepas animales y humanas, determinar la posible transmisión entre hospedadores y caracterizar los genes de resistencia a antimicrobianos que puedan estar involucrados en este proceso.

Material y métodos

Recogida de muestras:

Se obtuvieron muestras tanto de humanos como de conejos en 37 granjas de España. En total, se tomaron hisopos nasales de 53 trabajadores y muestras de lesiones de 72 animales. Estas muestras fueron cultivadas en agar Columbia CNA (ácido colistín-nalidíxico) con un 5 % de sangre de oveja (Becton-Dickinson, Sparks, MD, EE.UU.) e incubadas a 37 °C durante 24 horas en condiciones aeróbicas.

Para el análisis genómico, se realizó la secuenciación completa del genoma con el fin de determinar los perfiles alélicos del MLST (tipificación de secuencias multilocus) mediante PubMLST (Jolley y Maiden, 2010) y el estudio de los genes de resistencia mediante la herramienta AMRfinder (Feldgarden *et al.*, 2021). Asimismo, se utilizó MASH para estimar las distancias de mutación a nivel global y calcular la identidad nucleotídica media (ANI), como medida de la homología de las cepas (Ondov *et al.*, 2016).

Análisis estadístico:

Primero se determinó la presencia de genes de resistencia en muestras obtenidas de humanos y animales, para comparar la presencia de estos genes entre ambos grupos y evaluar si existía una interacción significativa entre el grupo de origen (humano o animal) y el tipo de antimicrobiano en la distribución de los genes de resistencia. Para ello, el análisis se llevó a cabo mediante un modelo mixto generalizado, utilizando una distribución binomial de probabilidad para la variable de respuesta y aplicando una transformación logarítmica $[\ln(\mu/(1-\mu))]$ como función de enlace (Proc Glimmix de SAS). En este modelo, se incluyó la interacción entre el grupo de individuos (humanos o animales) y la familia antimicrobiana (aminoglucósidos, beta-lactámicos, bleomicina, fosfomicina, lincosamidas, macrólidos, amonio cuaternario, tetraciclinas y trimetoprima) como efecto fijo.

Resultados y discusión

Caracterización de los aislados:

En el análisis de las 125 muestras estudiadas, se identificaron 22 tipos de secuencias (STs) diferentes, pertenecientes a 11 complejos clonales (CCs) (**Tabla 1**). Las cepas más comúnmente aisladas pertenecieron al ST3764, seguidas del ST2855 y ST121.

Los aislados pertenecientes a los complejos clonales CC121 y CC96 fueron los más frecuentes en conejos, lo que coincide con estudios previos (Viana *et al.*, 2007). En humanos, el CC96 fue el complejo clonal predominante, seguido de CC121 y CC398. Al comparar los resultados en ambos hospedadores, se observó que en 17 de las 37 granjas analizadas (45,95 %), los trabajadores compartían CCs y STs con los conejos.

Tabla 1. Número de cepas aisladas en conejos y humanos clasificadas en función del complejo clonal y el tipo de secuencia.

CC	ST	n	Portador
5	5	1	H
	146	1	C
	8762	1	H
8	8	3	H
15	15	1	H
22	22	1	H
30	30	3	H
59	8755	1	H
96	8756	1	H
	8759	2	H / C
	8008	5	H / C
	96	6	H / C
	2855	27	H / C
121	8763	2	H / C
	7763	5	H / C
	121	18	H / C
	3764	29	H / C
130	4774	5	H / C
398	8753	2	H
	398	9	H
425	425	1	C
	8144	1	C

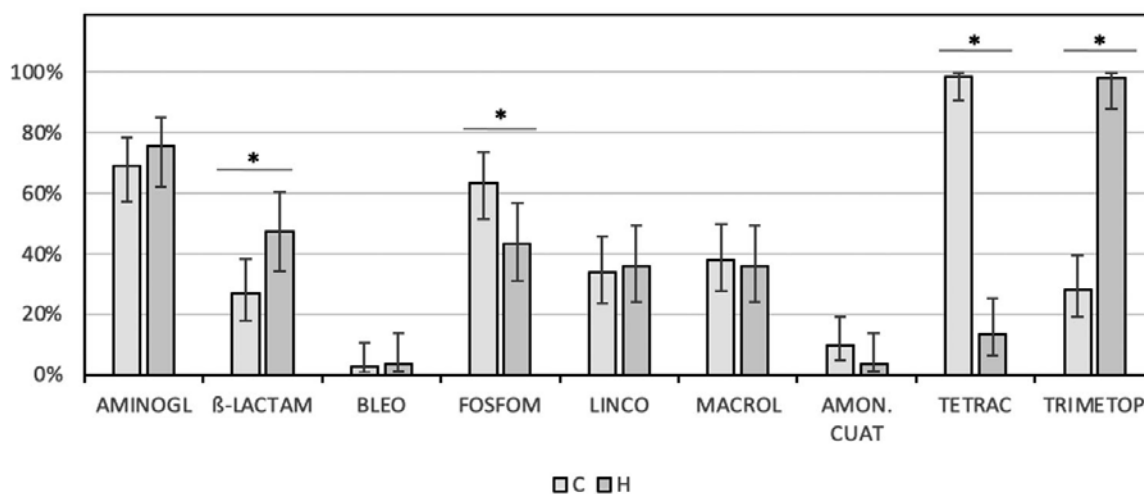
H: Muestra humana; C: Muestra de conejo

Para profundizar en la relación entre estas cepas, se estudió la ANI, un parámetro que indica la similitud de los genomas entre cepas. A mayor ANI, mayor es la similitud. Los resultados mostraron que, cuando las cepas de humanos y conejos de una misma granja eran del mismo CC, la identidad superaba el 99,83%. Además, el análisis reveló que en dos de estas granjas se obtuvo una ANI del 100% entre las cepas humanas y animales, lo que sugiere que ha habido transmisión de cepas entre ambas poblaciones. Investigaciones previas han descrito la adaptación de ciertas cepas a diferentes hospedadores, como se revisa en Howden et al. (2023). En particular, en conejos, Viana et al. (2015) señalaron que la mutación de un solo nucleótido en el gen *dltB* fue clave en la adaptación del CC121 de humanos a conejos. En este estudio, analizamos dicho gen para esclarecer la posible direccionalidad de la transmisión entre ambos hospedadores. Nuestros resultados mostraron que todas las cepas humanas pertenecientes al CC121 portaban la secuencia del *dltB* característica de conejos, lo que sugiere que, en estos casos, los humanos pudieron haber adquirido las cepas a partir de los conejos con los que estuvieron en contacto.

Caracterización de las resistencias antimicrobianas:

Se llevó a cabo un análisis para determinar la presencia y cantidad de genes de resistencia en las cepas secuenciadas. Al comparar la presencia de genes de resistencia en ambas poblaciones (**Figura 1**), se encontraron diferencias significativas en 4 de los 9 grupos de antimicrobianos analizados (intervalo de confianza del 95 % y valor de $p = 0,05$). Estos genes están asociados con resistencia a trimetoprima, tetraciclinas, fosfomicina y β -lactámicos. Por otro lado, en los 5 grupos restantes (aminoglucósidos, bleomicina, lincomicina, macrólidos y amonios cuaternarios), no se observaron diferencias significativas. Dado que las resistencias a antibióticos se encuentran mayoritariamente en elementos genéticos móviles y estos favorecen la transmisión de genes entre bacterias (Partridge et al., 2018), este hallazgo sugiere que podría haber ocurrido una transferencia de genes entre ambos hospedadores, lo que representa un riesgo tanto para los animales como para los humanos.

Figura 1. Porcentaje de genes de resistencia presentes en cepas de *S. aureus* procedentes de animales y humanos, en función de la familia antimicrobiana analizada.



AMINOGL: Aminoglucósidos; β-LACTAM: β-lactámicos; BLEO: Bleomicina; FOSFOM: Fosfomicina; LINCO: Lincomicina; MACROL: Macrólidos; AMON. CUAT: Amonios cuaternarios; TETRAC: Tetraciclinas; TRIMETOP: Trimetoprim
C: Muestras de conejo; H: Muestras de humanos
*Nivel de significancia $p < 0,05$

En cuanto al análisis del número de genes de resistencia, se observó que cuando había un porcentaje mayor de cepas resistentes a una familia antimicrobiana (en ambas poblaciones, humanas y animales), estas cepas también exhibían una mayor diversidad de genes de resistencia a dicha familia. Esto podría tener importantes implicaciones en la persistencia y diseminación de las resistencias en las granjas, ya que una mayor diversidad de genes podría reducir la eficacia de los tratamientos, favorecer la proliferación de las cepas más resistentes y, además, aumentar el riesgo de transmisión de estos genes entre hospedadores.

En conclusión, los conejos y los trabajadores de las granjas, que están en estrecho contacto, comparten habitualmente cepas de *S. aureus* filogenéticamente cercanas. Además, la identidad nucleotídica media entre las cepas es casi idéntica, lo que indica una transmisión entre hospedadores. Por último, los resultados obtenidos en este trabajo sugieren una posible transmisión de genes de resistencia entre cepas humanas y animales, lo que podría representar un riesgo para la salud de ambos hospedadores y resalta la necesidad de implementar medidas de vigilancia y control en estos entornos.

Agradecimientos: este proyecto ha sido financiado por la Universidad CEU Cardenal Herrera (GIR23/52), el Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-117897RB-I00) y la Generalitat Valenciana (Prometeo CIPROM-2021-053).

Los contratos predoctorales de Carmen Martínez Seijas, Patricia Mascarós Núñez y José Francisco Díaz Méndez están financiados por la Universidad CEU Cardenal Herrera. Asimismo, queremos expresar nuestro agradecimiento a los ganaderos por su predisposición, veterinarios, especialmente a Joan Rosell por su valiosa aportación de cepas para todos nuestros trabajos, y a Exopol S.L., también por su colaboración en la aportación de las muestras.

Bibliografía

- Aires-de-Sousa M. 2017. Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* among Animals: Current Overview. *Clin Microbiol Infect* 23(6):373–80.
- Feldgarden M, Brover V, Gonzalez-Escalona N, Frye JG, Haendiges J, Haft DH, Hoffmann M, Pettengill JB, Prasad AB, Tillman GE, Tyson GH, Klimke W. 2021. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci Rep* 11(1), 12728.
- Howden BP, Giulieri SG, Wong T, Baines SL, Sharkey LK, Lee JYH, Hachani A, Monk IR, Stinear TP. 2023. *Staphylococcus Aureus* Host Interactions and Adaptation. *Nat Rev Microbiol* 21(6):380–95.

- Jolley KA, Maiden M. 2010. BIGSdb: Scalable Analysis of Bacterial Genome Variation at the Population Level. *BMC Bioinformatics* 11(1):595.
- Ondov BD, Treangen TJ, Melsted P, Mallonee AB, Bergman NH, Koren S, Phillippy AM. 2016. Mash: Fast Genome and Metagenome Distance Estimation Using MinHash. *Genome Biol* 17(1):132.
- Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. 2018. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev* 31(4).
- Richardson EJ, Bacigalupe R, Harrison EM, Weinert LA, Lycett S, Vrieling M, Robb K, Hoskisson PA, Holden M, Feil EJ, Paterson GK, Tong A, Shittu A, Van Wamel W, Aanensen DM, Parkhill J, Peacock SJ, Corander J, Holmes M, Fitzgerald JR. 2018. Gene Exchange Drives the Ecological Success of a Multi-Host Bacterial Pathogen. *Nat Ecol Evol* 2(9):1468–78.
- Viana D, Selva L, Segura P, Penadés JR, Corpa JM. 2007. Genotypic Characterization of *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Rabbit Lesions. *Vet Microbiol* 121(3–4):288–98.
- Viana D, Comos M, McAdam PR, Ward MJ, Selva L, Guinane CM, González-Muñoz BM, Tristan A, Foster SJ, Fitzgerald JR, Penadés JR. 2015. A Single Natural Nucleotide Mutation Alters Bacterial Pathogen Host Tropism. *Nat Genet* 47(4):361–66.

Caso clínico de Enteropatía proliferativa por *Lawsonia intracellularis*.

¿Qué importancia tiene en cunicultura?

*Clinical case of proliferative enteropathy due to *Lawsonia intracellularis*.
How important is it in rabbit breeding?*

Sanz C¹*, Sánchez del Cueto M²

¹Exopol. Pol. Río Gállego, D-14. 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza, España.

²Cogal Soc. Coop. Gallega. C/ Alceme. 36530, Rodeiro, Pontevedra, España.

*csanz@exopol.com

Resumen

La enteropatía proliferativa o ileítis es una enfermedad digestiva en la que se observa un engrosamiento de la mucosa intestinal por la proliferación de células epiteliales de las criptas intestinales en la parte final del intestino delgado. El agente etiológico es *Lawsonia intracellularis*, una bacteria intracelular obligada. Aunque el cerdo es el hospedador más importante, *L. intracellularis* puede afectar a otras especies incluyendo el conejo, donde se ha demostrado que produce tiflitis aguda, enteritis histiocítica, enterocolitis y enteropatía proliferativa. La forma aguda produce una elevada mortalidad por diarrea en neonatos, jóvenes y conejos adultos. Los conejos con lesiones crónicas pueden presentar engrosamiento del intestino delgado. En el presente trabajo se expone un caso clínico donde se confirmó la presencia de *L. intracellularis* por qPCR a tiempo real y por histopatología en muestras de digestivo de conejas de reposición y adultas que presentaban una diarrea hemorrágica y acuosa atípica. La enteritis proliferativa por *L. intracellularis* es un proceso que en la actualidad tiene escasa presentación en granjas cunícolas. Este patógeno es de gran relevancia clínica en especies como el cerdo mientras que en conejos hay pocos estudios descritos. Sin embargo, en caso de explotaciones afectadas, causa pérdidas económicas importantes debido a la elevada mortalidad que puede provocar y a los costes de tratamiento.

Palabras clave: enteropatía proliferativa, *Lawsonia intracellularis*, conejo, diarrea.

Abstract: proliferative enteropathy or ileitis is a digestive disease that is characterized by intestinal mucosa thickening due to epithelial cell proliferation of the intestinal crypts in the final part of the small intestine. The etiological agent is *Lawsonia intracellularis*, an obligate intracellular bacterium. Although swine is the most important host, *L. intracellularis* can affect other species including rabbits. It has been shown to cause acute typhlitis, histiocytic enteritis, enterocolitis and proliferative enteropathy. In the acute form, there are reports of high mortality due to diarrhea in neonatal, young and adult rabbits. Otherwise rabbits with chronic lesions may present thickening of the small intestine. This paper presents a clinical case where the presence of *L. intracellularis* was confirmed histopathologically and by real-time qPCR in digestive samples from young and adult rabbits that presented atypical hemorrhagic and watery diarrhea. Proliferative enteritis due to *L. intracellularis* is rarely diagnosed in rabbit farms. This pathogen has great clinical relevance in species such as swine, while few studies have been reported in rabbits. However, in affected farms, it causes significant economic losses due to high mortality and costs of treatment.

Keywords: proliferative enteropathy, *Lawsonia intracellularis*, rabbit, diarrhea.

Introducción

La enteropatía proliferativa, conocida también como ileítis, es una enfermedad entérica que se caracteriza por un engrosamiento de la mucosa intestinal debido a la proliferación de células epiteliales de las criptas intestinales en la parte terminal del intestino delgado. Está causada por una bacteria intracelular obligada, *Lawsonia intracellularis*, por lo que para su aislamiento y multiplicación son necesarias líneas celulares. La infección por esta bacteria afecta negativamente al aprovechamiento de los nutrientes y al crecimiento

de los animales. El cerdo es el hospedador más relevante, sin embargo, *L. intracellularis* puede afectar a otros animales: hámster, caballo, conejo, hurón, zorro, perro, rata, oveja, ciervo, emú, avestruz, cobaya y primates no humanos. A pesar de la amplia lista de hospedadores, no se trata de una zoonosis (Prieto *et al.*, 2017). En cunicultura no es un proceso frecuente, lo que hace que el análisis de este patógeno no se incluya de forma habitual en el diagnóstico diferencial de los casos digestivos y por tanto tampoco se dispone de muchos datos. A modo de ejemplo, podemos decir que en Exopol, laboratorio de diagnóstico veterinario, a lo largo de los últimos 10 años (entre 2015-2025), únicamente se ha investigado la presencia de *L. intracellularis* en 58 casos clínicos a petición de nuestros clientes veterinarios, encontrando solamente 2 casos positivos mediante PCR a tiempo real (qPCR). Sin embargo, se ha descrito que cuando aparece en una explotación, puede dar lugar a cuadros graves de diarrea con elevada mortalidad produciendo tiflitis aguda, enteritis histiocítica, enterocolitis y enteropatía proliferativa (Horiuchi *et al.*, 2008). La forma aguda produce una elevada mortalidad por diarrea en neonatos, jóvenes y conejos adultos (Peixoto *et al.*, 2008). Los conejos con lesiones crónicas pueden presentar engrosamiento del intestino delgado (Percy y Barthold, 2007). En cunicultura no se dispone de técnicas serológicas comerciales. Sin embargo, se han realizado estudios de seroprevalencia con técnicas "in house" que demuestran su presencia en las granjas. En un estudio realizado en Korea del Sur mediante un ensayo monocapa de inmunoperoxidasa, se detectaron anticuerpos contra *L. intracellularis* en el 12,3 % de las granjas (20/163) y en el 6,3 % de los conejos (49/774) (Yeh, 2023). En este trabajo se presenta un caso clínico donde se confirmó la presencia de *L. intracellularis* por qPCR a tiempo real y por histopatología en muestras de digestivo de conejas de reposición y adultas que presentaban una diarrea hemorrágica y acuosa atípica.

Material y métodos

El caso afectó a una granja de conejos comercial de producción de gazapos, con unas 600 hembras reproductoras en banda única con inseminación artificial a 11 días postparto con ventilación controlada y alimentación automática. Durante un año y medio (2021-2022) se observó un goteo constante de hembras con diarrea moderada y oscura. Inicialmente apareció en la reposición, pero después el problema se extendió a toda la granja, aunque siguió siendo predominante en hembras jóvenes. Se produjeron abandonos de camada, exceso de gazapos a repartir, así como el aumento de animales débiles al destete. En un primer momento se enviaron muestras al laboratorio (5 paquetes intestinales de hembras de reposición) para realizar un diagnóstico diferencial de las principales patologías digestivas más comunes en conejos. Se tomaron muestras de raspados de la mucosa intestinal mediante hisopado, se sembraron en placas de agar sangre Columbia, McConckey, XLD (Oxoid) y se cultivaron a 37 °C en condiciones aeróbicas durante 24-48 h. Se utilizó MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Alemania) para identificar los aislados bacterianos. Sobre los tejidos se investigó la presencia de los siguientes patógenos: *Clostridium perfringens*, *Clostridium spiroforme*, *Bacteroides fragilis* enterotoxigénico, *Salmonella* spp., *Enterococcus hirae*, Rotavirus tipo A, Coronavirus del conejo, Bocaparvovirus lapino, *Eimeria* spp. y *Escherichia coli* enteropatógeno, todo ello mediante qPCR.

El goteo inicial se agravó y los problemas digestivos aumentaron, así como la mortalidad de las hembras. Durante el año siguiente (2023), la mortalidad en las hembras fue muy alta, llegando casi al 30%. Esta mortalidad se concentró entre el parto y la inseminación, pero continuó en goteo todo el ciclo. En las hembras se observaba una diarrea hemorrágica con adelgazamiento y muerte. A la necropsia, en repetidas ocasiones se observaba el ciego con la mucosa muy engrosada y congestiva. En ese momento se realizó un segundo muestreo y se enviaron al laboratorio 4 paquetes digestivos de hembras adultas para la detección específica mediante qPCR del agente causal de la Enfermedad de Tyzzer (*Clostridium piliforme*) y *Lawsonia intracellularis*. Además, se incluyeron las muestras en formol diluido al 10%, las cuales se remitieron a un laboratorio especializado para estudio histopatológico de las lesiones (Micros Veterinaria, León). El análisis de todos estos agentes entéricos en las muestras recibidas de ambos muestreos se realizó mediante qPCR. El proceso se inició con la extracción y purificación de los ácidos nucleicos a partir de las muestras clínicas digestivas utilizando para ello el kit comercial MagMAX.CORE (Applied Biosystems) con un equipo automático KingFisher Flex (Thermo). Una vez obtenidos los ácidos nucleicos, se utilizaron kits comerciales de la serie EXOone (Exopol) para la detección de cada uno de los patógenos siguiendo las instrucciones del fabricante: EXOone oneMIX C. *perfringens* Alpha Toxin, EXOone oneMIX C. *spiroforme*, EXOone oneMIX *Bacteroides fragilis*, EXOone oneMix *Salmonella enterica*, EXOone oneMix *Enterococcus hirae*, EXOone oneMIX Rotavirus A, EXOone oneMIX Rabbit Coronavirus, EXOone oneMIX Lapine BocaParvovirus, EXOone oneMIX *Eimeria* spp., EXOone oneMIX *E. coli eae gene*, EXOone oneMIX Enfermedad de Tyzzer, EXOone oneMIX *Lawsonia intracellularis*.

Resultados y discusión

Tal y como puede observarse en la **Tabla 1**, en el análisis de las muestras digestivas de las hembras de reposición, se descartó la presencia de cepas de *E. coli* enteropatógeno, así como del resto de patógenos analizados, excepto *Clostridium spiroforme* y *Eimeria* spp., que se detectaron con unos Cq de valor medio (30 y 31) lo que corresponde con concentraciones de dichos patógenos medias-bajas.

Tabla 1. Resultados del panel digestivo diferencial mediante PCR a tiempo real en el primer muestreo.

ENFERMEDAD	MUESTRA	RESULTADO PCR	VALOR CQ
<i>Clostridium perfringens</i>	Pool Digestivos	Negativo	
<i>Clostridium spiroforme</i>	Pool Digestivos	Positivo	30
<i>Bacteroides fragilis</i> enterotoxigénico	Pool Digestivos	Negativo	
<i>Salmonella</i> spp.	Pool Digestivos	Negativo	
<i>Enterococcus hirae</i>	Pool Digestivos	Negativo	
Rotavirus tipo A	Pool Digestivos	Negativo	
Coronavirus del conejo	Pool Digestivos	Negativo	
Bocaparvovirus lapino	Pool Digestivos	Negativo	
<i>Eimeria</i> spp.	Pool Digestivos	Positivo	31
<i>Escherichia coli</i> enteropatógeno	Pool Digestivos	Negativo	

Nota: detección mediante EXOOne qPCR kits. Una muestra se considera positiva si tiene un valor de Cq ≤38.

Los resultados del segundo muestreo de los digestivos de las hembras adultas se muestran en la **Tabla 2**. Se detectó *Lawsonia intracellularis* en concentración media y se descartó la Enfermedad de Tyzzer. A pesar de que estas enfermedades entéricas no son muy habituales en cunicultura, se caracterizan también por una elevada mortalidad y diarrea acuosa, a menudo hemorrágica (Rosell, 2000).

Tabla 2. Resultados mediante PCR a tiempo real en el segundo muestreo.

ENFERMEDAD	MUESTRA	RESULTADO PCR	VALOR CQ
Enfermedad de Tyzzer	Pool Digestivos	Negativo	
<i>Lawsonia intracellularis</i>	Pool Digestivos	Positivo	28

Nota: detección mediante EXOOne qPCR kits. Una muestra se considera positiva si tiene un valor de Cq ≤38.

En cuanto a los resultados histopatológicos, el colon presentaba un aparente engrosamiento, con marcada hiperplasia de la mucosa, incremento del número de criptas e hiperplasia de las mismas, aunque manteniendo la estructura. No se observaron fenómenos inflamatorios. Las lesiones observadas a nivel de colon eran características de infección por *L. intracellularis* (Zimmerman et al., 2019).

A partir de este momento, una vez diagnosticado el agente causal tanto por PCR a tiempo real como mediante estudios histológicos, se aplicaron los tratamientos y pautas habitualmente utilizados en brotes agudos de *Lawsonia* en porcino, especie en la que es una enfermedad habitual y bien estudiada (Zimmerman et al., 2019). La mortalidad descendió del 29,4% (2023) hasta 3,5% (2024).

Lawsonia intracellularis se excreta en cantidades importantes en las heces de los cerdos infectados, particularmente cuando presentan signos clínicos de la enfermedad. La viabilidad de esta bacteria en el medio ambiente permite su transmisión a través de diferentes vehículos como el pienso, el agua o todo tipo de instalaciones, utensilios, camiones etc., contaminados con las heces. Además, algunos vectores como las aves o particularmente los roedores pueden colaborar en el mantenimiento de la infección en la explotación. En este caso concreto, la fuente de infección no se ha podido determinar con certeza, pero se plantea como posible vía de entrada la presencia de roedores en la granja, dado que pueden actuar como portadores o infectarse con *L. intracellularis*. Además, al tratarse de una granja con medidas de bioseguridad limitadas y sin explotaciones porcinas en las proximidades, la introducción del patógeno a través de fómites relacionados con cerdos es poco probable.

Mientras que *L. intracellularis* es un patógeno frecuente y muy conocido en especies como el cerdo, en conejos hay pocos estudios descritos y podríamos decir que la enteritis proliferativa causada por esta bacteria en la actualidad tiene escasa presentación en granjas cunícolas, aunque también es posible que el escaso conocimiento sobre la misma haga que no sea investigada habitualmente. La descripción de este caso clínico confirma que *L. intracellularis* es un patógeno que debe ser tenido en cuenta como agente etiológico en

procesos digestivos de conejos, ya que es capaz de causar importantes pérdidas debido a la elevada mortalidad que puede provocar y a los costes de tratamiento. Es por ello que debería ser tenido en cuenta en el diagnóstico diferencial de los procesos entéricos en cunicultura en la rutina del diagnóstico.

Bibliografía

- Horiuchi N, Watarai M., Kobayashi Y, Omata Y, Furuoka H. 2008. Proliferative enteropathy involving *Lawsonia intracellularis* infection in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(4), 382-392.
- Peixoto PV, França TN, Ribeiro CT, Bezerra PS, Driemeier D. 2008. Proliferative enteropathy (*Lawsonia intracellularis*) outbreak in rabbits in Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(10), 447-451.
- Percy DH, Barthold SW. 2007. Rabbit. En S. Barthold, S. M. Griffey, & D. H. Percy (Eds.), *Pathology of laboratory rodents and rabbits* (pp. 375-376). Blackwell Publishing.
- Prieto-Suárez C, Martínez-Lobo FJ, Segalés-Coma J, Carvajal-Urueña AM. 2017. *Enfermedades infecciosas del ganado porcino*. Editorial Servet. Barcelona, España.
- Rosell JM. 2000. *Enfermedades del conejo*. Vol. 2. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Yeh JY. 2023. Prevalence and associated risk factors for *Lawsonia intracellularis* infection in farmed rabbits: A serological and molecular cross-sectional study in South Korea. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1058113.
- Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J. 2019. *Diseases of Swine* (11ª ed.). Wiley Blackwell. Hoboken, NJ, USA.

***Fusobacterium necrophorum* en cunicultura, caso clínico en una granja industrial**

Fusobacterium necrophorum in rabbit production, a clinical case in a industrial rabbit farm

Malo M*

Nutega Huesca S.L., Guco S.Coop. Mesenor S.Coop), Grasa J.R. (Nutega Huesca S.L.)

*mmalomartinez@yahoo.es

Resumen

La infección por *Fusobacterium necrophorum* en cunicultura está descrita desde hace muchos años como complicante de otras afecciones, pero no es habitual encontrar este germen en las granjas industriales. Este caso clínico trata precisamente de una granja veterana pero industrial (insemina unas 800 conejas) afectada de *Fusobacterium necrophorum* y sin que hayamos sido capaces de encontrar ningún otro agente primario.

Palabras clave: *Fusobacterium*, cunicultura.

Abstract

Fusobacterium necrophorum infection in rabbit farming has been described for many years as a complicating factor for other diseases, but this germ is not commonly found on industrial farms. This clinical case specifically concerns an established industrial farm (which inseminates approximately 800 rabbits) affected by *Fusobacterium necrophorum*, and we have not been able to identify any other primary causative agent.

Keywords: *Fusobacterium*, rabbit production.

Introducción

El *Fusobacterium necrophorum* es una bacteria filamentosas no móvil, anaerobia estricta y no esporulada, muy extendida en distintas superficies y presente en el tracto gastrointestinal de muchos animales, incluida la boca. No se conoce bien el mecanismo que utiliza esta bacteria para sobrevivir en gran variedad de ambientes, dada su condición de anaerobia y no esporulada.

Es conocida como patógena en varias especies, aunque se considera que aprovecha situaciones de debilidad de las mucosas para ejercer su acción patógena. Por ejemplo, en el panadizo interdigital de ovino y bobino suele aparecer en épocas húmedas en las que las pezuñas se reblandecen. La presencia del germen en la boca se relaciona con la aparición de varias enfermedades de la zona como la difteria del ternero o el síndrome de Lemierre en humana, enfermedad esta rara pero muy grave que afecta a personas jóvenes que anteriormente han padecido amigdalitis y que tiene un desarrollo rápido y fatal sin tratamiento, con afecciones graves a nivel bucal, vascular y sistémico.

Ya en 1981, Schmorl et al. describieron la infección por *Streptothrix cuniculi* luego renombrado *Fusobacterium necrophorum*, con lesiones dentales y con formación de abscesos, y afectando a la cabeza fundamentalmente. A principios de los 70, los autores Kotsche y Gottschalk hablaban del *Fusobacterium* como complicante de una infección de un virus vesicular, en realidad ellos achacaban la mayor parte de los síntomas y lesiones a la infección vírica con una fotografía muy característica. En 1999, Seps et al. describían un caso clínico en un conejo de laboratorio con unas lesiones y evolución muy similares al mencionado síndrome de Lemierre y también al caso que nos ocupa.

Caso clínico

La granja que nos ocupa es una explotación que trabaja con dos bandas de madres y una de cebo, con inseminación a 25 días post parto y destete tardío. En cada banda se inseminan unas 600 conejas (sería una producción equivalente a unas 800 inseminaciones a 11 días). La granja tiene muchos años, pero tiene el material cambiado. Es una típica explotación tradicional.

Con el inicio del calor en el año 2022 comienzan a aparecer los primeros casos de gazapos todavía lactantes de unos 25 con una destilación nasal/bucal que morían con un patrón que sugería una enfermedad contagiosa. Nuestra primera sospecha fue un problema respiratorio con edema pulmonar. En la necropsia no pudimos observar el edema, aun así, tomamos muestras tanto de pulmones como de cornetes nasales. Salió una infección *Pasteurella/Brdetella* y aconsejamos el tratamiento antibiótico.

Remitió bastante con el uso de antibióticos sin llegar a desaparecer completamente. Al final del otoño comenzaron a fracasar los tratamientos y tomamos muestras de nuevo centrándonos en los cornetes que se observaban más afectados que los pulmones. El resultado fue decepcionante: muestras contaminadas. Pensando que había sido un problema de recogida llevamos cabezas enteras al laboratorio, de nuevo muestras contaminadas salvo una con *Brdetella* sp.

Viendo que la terapia antibiótica no nos funcionaba y ante la aparición de conejas con los mismos síntomas que los gazapos, decidimos hacer una autovacuna de *Pasteurella/Bordetella* que, lógicamente, no funcionó.

Seguimos analizando sin éxito y gestionando el problema con antibióticos con distintas pautas de tratamiento intentando anticiparnos al problema. Se alternaban lotes mejores y peores concentrándose bastante en los momentos de más difícil ventilación, pero sin llegar a desaparecer en los lotes de menos presión.

A principios de 2024 el problema se recrudeció y en una nueva necropsia apreciamos las primeras lesiones de necrosis caseosa y degeneración del hueso maxilar inferior. Siempre habían estado ahí, simplemente no habíamos hecho un corte adecuado o no habíamos buscado lo suficiente en la zona. Yo con unos 30 años de veterinario de cunicultura y José Ramón con alguno menos nunca habíamos visto estas lesiones. Buscamos en los libros habituales y no encontramos nada. Las muestras tomadas directamente de la lesión tampoco nos aportaban nada.

En otoño de 2024 asistí con Rubén García a otra granja con un proceso peculiar, tomamos muestras y llevamos a analizar. Por las lesiones me recordaba a una descripción que había leído de *Fusobacterium necrophorum*. No era, pero en ese momento pensé que quizá ese proceso que me estaba resultando tan complicado podría ser *Fusobacterium necrophorum*. Hablé con Celia de Exopol y pensamos que se podía utilizar el kit de PCR de ovino: eureka, nos dio positivo. Hicimos histología y Celia se empleó a fondo con un aislamiento nada sencillo. Tanto la histología como el aislamiento nos confirmó la existencia del germen.

Lógicamente nos pusimos a buscar información y pudimos encontrar una descripción de un gazapo de laboratorio infectado (Seps et al., 1999) muy similar a lo que habíamos encontrado. Haciendo paralelismo con lo que sucede en el síndrome de Lemier en humana tenemos claro que, incluso medicaciones a las que el germen es sensible, pueden no funcionar por llegar tarde puesto que, aunque las lesiones se dan fundamentalmente en la cabeza, la afección vascular es evidente y la repercusión hepática muy probable por lo que cuando medicamos tenemos la sensación de que el tratamiento no funciona.

Discusión

Sin duda se trata de un caso excepcional, aunque probablemente la utilidad de esta presentación sea más informativa que práctica puesto que no consideramos previsible la difusión del *Fusobacterium* por otras granjas, al menos no de forma importante. ¿Es posible que con un uso más extendido a lo largo del ciclo del pienso medicado hubiera evitado la evolución del caso? No es descartable, aunque las medicaciones puntuales de hasta 14 días no han funcionado.

Seguimos sin saber si el germen se está comportando como oportunista (en realidad en otras especies se considera siempre así) o como germen principal. Nos parece raro que siendo oportunista tenga un desarrollo

tan largo. No hemos encontrado nada que nos haga pensar en un predisponente, en la histología no hay cuerpos de inclusión, no aparecen las vesículas que describen Kotsche y Gottschalk (1974). Por otra parte, si hay muchos animales portadores y es agente primario ¿por qué no aparece en más granjas? De momento son preguntas que no podemos responder.

Conclusión

¿Cuál es la situación actual? En Exopol nos han preparado una autovacuna de la que no tenemos grandes esperanzas de funcionamiento y que el laboratorio solo va a tener gastos puesto que es una referencia de elaboración difícil y solo con una granja afectada. Todavía no tenemos el resultado. Por otra parte, con lo que hemos ido aprendiendo, el tratamiento antibiótico va mejor, pero tenemos una mortalidad de conejas incesante con síntomas aparentemente digestivos, pero que achacamos al problema. En los gazapos no hay mortalidad alta en estos últimos lotes.

Gracias a Exopol por esa sensibilidad que siempre han tenido hacia nuestra especie y que es este caso sobrepasa lo esperable.

Aunque la antibioterapia haya mejorado su desempeño, si la autovacuna no funciona mi consejo será el vacío sanitario y el ganadero piensa lo mismo.

Bibliografía

- Kötsche W, Gottschalk C. 1974. *Enfermedades del conejo y de la liebre*. 1974.
- Schmorl G. 1891. Ueber ein pathogenes Fadenbacterium (*Streptothrix cuniculi*). *Deutsch Z Thiermed*, 17, 375-408.
- Seps SL, Battles AH, Nguyen L, Wardrip CL, Li X. 1999. Oropharyngeal Necrobacillosis with Septic Thrombophlebitis and Pulmonary Embolic Abscesses: Lemierre's Syndrome in a New Zealand White Rabbit. *Contemp Top Lab Anim Sci. Sep*;38(5):44-46. PMID: 12086416.

IA en cunicultura: prevención de patologías en un entorno de uso prudente de antibióticos.

Un caso práctico

AI in rabbit farming: pathology prevention in an antibiotic reduction environment. A practical case.

Castellnou JE¹, Carvalho A¹, Marco M², Fernandez XM¹

¹Veterinario. Servicio Técnico Nutreco Animal Nutrition Iberia.

²Veterinario. Rabbit Technical Manager Nutreco Animal Nutrition Iberia.

Resumen

El control de la patología en cunicultura dentro de un marco legal que obliga a minimizar el uso de antibióticos es indispensable si queremos que nuestras granjas sean viables. La incorporación de la Inteligencia Artificial en la gestión de las granjas permite la detección temprana de signos de enfermedad y la consiguiente prevención de patologías con un uso mínimo y preciso de terapias antibióticas. Durante dos años hemos alimentado nuestro modelo de *Machine Learning* que permite predecir la mortalidad de una banda de engorde y nos da información de cómo y dónde actuar para evitarla.

Palabras clave: patología, inteligencia artificial, predicción.

Abstract

Rabbit farming pathology control in a mandatory antibiotic reduction environment is a must if we want our farms to survive. Adopting AI in farm management allows for early detection of pathology onset and helps preventing disease with a precise and minimal use of antibiotics. We have been training our ML model to predict rabbit batch mortality and to yield data on how and when to intervene to avoid it.

Keywords: pathology, AI, Prediction.

Metodología

Toma de datos

La toma profesional y objetiva de decisiones, basada en hechos y siguiendo una aproximación científica, depende de la continua obtención de datos de producción y de su entorno y, más importante si cabe, de su visualización e interpretación.

Para nuestro caso, la predicción temprana de la posibilidad de patologías en lotes de engorde, la toma de datos fue:

- Sistemática, en distintas granjas, cuanto más y más diversas mejor.
- En granjas dispersas lo más posible por nuestro ámbito geográfico.
- En granjas con resultados buenos, malos y regulares, todos ellos con el mismo peso específico.

Para garantizar la *calidad de los datos* a utilizar (condición imprescindible para obtener un modelo de predicción que nos sirva como herramienta de trabajo):

- Decidimos qué datos tomar (veterinario especialista).
- Descartamos las correlaciones espurias: causalidad vs casualidad (veterinario especialista).
- Escogimos los algoritmos más adecuados (veterinario, científico de datos)

- Nos aseguramos de que los datos sean homologables y homogéneos (objetivos), y comprobables: si no estamos seguros de su veracidad son rechazados. Recordar: "shit in, shit out".
- Siempre bajo la premisa de que la toma de decisiones basada en datos debe ser supervisada por técnicos especialistas; la Inteligencia Artificial (Análisis de Datos + Ciencia de Datos) es una herramienta muy potente que nos debe ayudar a alcanzar soluciones a problemas con múltiples variables, pero no es un fin en sí misma.

Análisis de datos

Para el procesado, la visualización y la interpretación de los mismos usamos la *app* Jupyter Notebook; los módulos Matplotlib y Seaborn (ambos de Python), y la *app* MySQL (bases de datos relacionales).

Los datos son imprescindibles y acarrea trabajo y esfuerzo a nuestros clientes. Por ello, tras construir nuestra base de datos, creamos una *app* de Power BI (Microsoft) para cada cliente que este puede descargarse en el móvil y ver en tiempo real la evolución de los distintos indicadores de su granja. Este *dashboard* personalizado y que se va actualizando constantemente, es una herramienta de gestión que permite optimizar el manejo de la granja al cliente, a la vez que nos suministra datos de forma continua para ir alimentando nuestra base de datos general.

Modelos de Predicción de Machine Learning

Nuestra base de datos general consta, hasta hoy, de unas 1500 bandas de engorde (filas) por 30 variables para cada banda: 45000 valores en total como resultado de la encuesta realizada a pie de granja. Después hemos generado nuevos inputs para cada banda, que nos han permitido incrementar la precisión de predicción de nuestros modelos.

Hemos dividido esta fase de Machine Learning en dos partes:

1. **Unsupervised Machine Learning:** con un modelo *Kmeans* hemos descubierto una estructura interna de nuestra población que consta de 3 *clusters* según la performance productiva de cada banda. Con los parámetros "tempranos" de fertilidad% y mortalidad al destete% somos capaces de predecir -dentro de cada granja- los kg/IA y el beneficio por kg carne. Esta información permite una mejor gestión económica del negocio, y la posibilidad de actuar sobre la banda para corregir el resultado económico, además de mejorar la precisión de la previsión de mortalidad en engorde en un 5%.
2. **Supervised Machine Learning:** presentamos 2 de los modelos testados, un *XGBOOST Regressor* y una *Logistic Regression*. Nuestro objetivo es predecir el % de mortalidad en engorde a partir de parámetros de presentación temprana. Los modelos tienen unas precisiones de alrededor del 75%. Esta precisión irá mejorando con la incorporación de datos de nuevas bandas. Pero el aspecto más importante de nuestros modelos de ML es que nos retornan que parámetros debemos variar, y en qué sentido, para reducir al máximo la probabilidad de mortalidad de la banda.

Conclusiones

Estamos tan solo en la fase inicial de este proyecto, pero los resultados son positivos, y mejorarán a medida que dispongamos de datos nuevos. Los modelos de *Machine Learning* se autocorrigen e incrementan su precisión continuamente. Los tópicos a explorar son incontables (Diagnóstico precoz de VHD/Mixomatosis por imagen, diseño de piensos a medida, mejora de profilaxis/metafilaxis, antibiogramas más precisos, genéticas más acertadas). Como ya dijimos, se trata de una herramienta que nos permite mejorar en la toma de decisiones, y no sustituye en modo alguno al técnico especialista; pero creemos que un uso adecuado nos hará más eficaces en la producción de carne de conejo, y nos permitirá hacerlo dentro del exigente marco legal del mundo en que vivimos.

Figura 1. Heat Map de correlaciones de los inputs numéricos de nuestra base de datos. Una elevada correlacion permite detectar y eliminar datos superfluos.

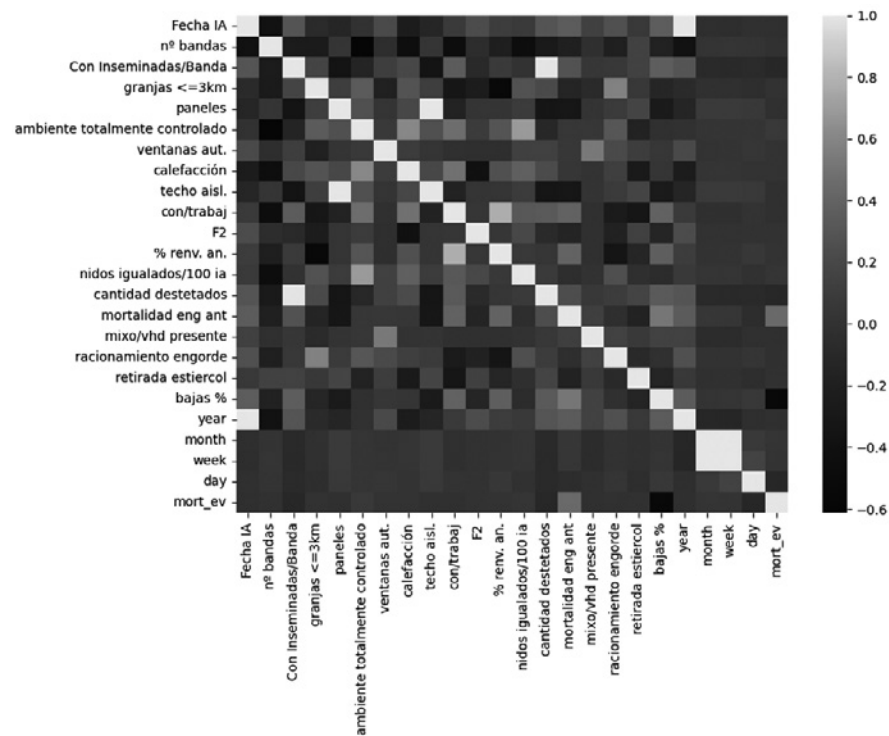
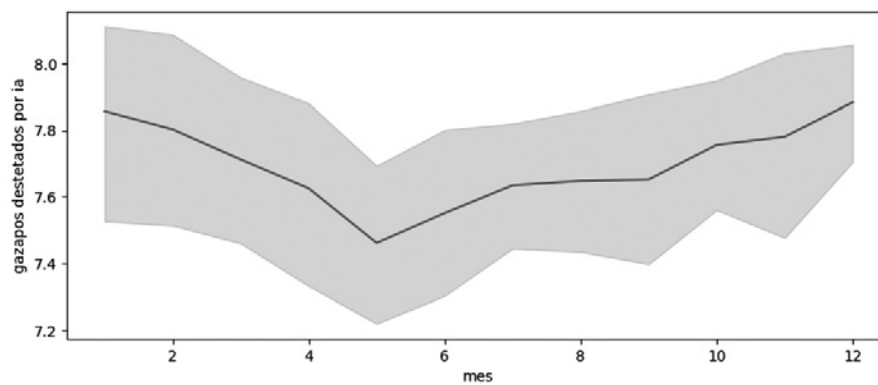


Figura 2. Gazapos destetados por coneja inseminada, por mes.



La vacunación recurrente con MIXOHIPRA®-H no reduce la respuesta pre-existente de anticuerpos frente a mixomatosis

Frequen myxomatosis vaccination with MIXOHIPRA®-H does not reduce the pre-existing antibody response

Baratelli M¹, Prieto-Quiroga C², García-Pariente C², Gullón-Álvarez J², Sánchez-del-Cueto-Losada M², Ramírez-Oliveras S¹, Gascon-Torrens S^{*1}

¹HIPRA, Amer (Girona), Spain.

²COGAL sociedad cooperativa Gallega, Rodeiro (Pontevedra), Spain

^{*}sandra.gascon@hipra.com

Resumen

La mixomatosis es una enfermedad endémica en regiones europeas como España, lo que hace necesario proteger a los conejos durante todo el año. Aunque las vacunas vivas atenuadas autorizadas se recomiendan de forma semestral, es común la práctica de administrar vacunas en intervalos reducidos para mantener la inmunidad del grupo durante períodos de alta reposición de conejas reproductores. Sin embargo, existen preocupaciones sobre una posible disminución de los anticuerpos contra el virus de la mixomatosis (MYXV) debido a la tolerancia inducida o la inmunosupresión resultante de vacunaciones frecuentes.

El objetivo de este estudio, realizado en una granja de conejos en España, fue investigar dichas inquietudes comparando la respuesta de anticuerpos generada mediante distintos programas de revacunación. Las conejas reproductoras de reemplazo se dividieron en tres grupos y fueron revacunadas en diferentes intervalos, tomando muestras de sangre periódicamente hasta 9 meses después de la vacunación. La respuesta de anticuerpos contra MYXV se evaluará mediante un ELISA indirecto y se realizaron análisis estadísticos para comparar los resultados entre los grupos.

La vacunación inicial indujo una respuesta de anticuerpos en todos los grupos. La serología entre los grupos revacunados en intervalos más cortos y el grupo con el intervalo estándar no mostró diferencias estadísticamente significativas. Esto sugiere que la revacunación frecuente no disminuyó la respuesta de anticuerpos existente, aunque tampoco se observó un aumento adicional. Los hallazgos indican que la revacunación frecuente podría ser una estrategia útil para mantener una inmunidad adecuada en granjas que enfrentan desafíos en el control de la enfermedad y manejo, evitando la aparición de subpoblaciones de animales seronegativos. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender los efectos en la protección vacunal y en otros componentes del sistema inmunológico, ya que la respuesta de anticuerpos por sí sola no correlaciona directamente con la protección frente a mixomatosis.

Palabras clave: mixomatosis, vacuna, conejo.

Abstract

Myxomatosis is a prevalent disease in European regions such as Spain, necessitating year-round protection for adult rabbits. Although licensed live attenuated vaccines are recommended biannually, there is a common practice of administering vaccines at reduced intervals to maintain herd immunity during high breeder rabbit replacement rates. However, there are concerns about the potential decrease in myxomatosis virus (MYXV) antibodies due to induced tolerance or immunosuppression as a result of frequent vaccinations.

The aim of this study, conducted on a rabbit farm in Spain, was to investigate these concerns by comparing antibody responses generated through different revaccination programmes. Replacement breeder rabbits were divided into three groups and revaccinated at varying intervals, with blood samples collected periodi-

cally up to 9 months post-vaccination. Antibody responses against MYXV were assessed using an indirect ELISA, and statistical analyses were performed to compare the results between the groups.

The initial vaccination induced an antibody response in all groups. Comparisons of groups revaccinated at shorter intervals with the standard interval group revealed no statistically significant differences. This suggested that frequent revaccination did not decrease the existing antibody response, although no boost was observed. The findings suggest that frequent revaccination could be a strategy to maintain proper immunity on farms facing challenging disease and management situations, preventing the emergence of subpopulations of negative animals. Further investigations are needed to understand the boosting effects on vaccine protection and other components of the immune system, as the antibody response alone may not be a reliable correlate of protection.

Keywords: myxomatosis, vaccine, rabbit.

Introducción

La mixomatosis es endémica en regiones europeas como España, por lo que es importante mantener a los conejos protegidos durante todo el año (Villafuerte *et al.*, 2017). Las vacunas vivas atenuadas están autorizadas para su aplicación dos veces al año, con revacunación cada 6 meses. A pesar de esto, es una práctica común aplicar la vacuna con intervalos de revacunación más cortos cuando existen preocupaciones sobre situaciones desafiantes de la enfermedad. El objetivo de esta práctica es intentar mantener o reforzar la inmunidad del grupo frente a una alta tasa de reposición de conejas reproductoras.

A pesar de la adopción de esta práctica, los usuarios están preocupados de que aumentar la frecuencia de la vacunación pueda disminuir la producción de anticuerpos contra el virus de la mixomatosis (MYXV) debido a una tolerancia inducida o a un efecto inmunosupresor.

El objetivo de este estudio fue investigar dichas inquietudes comparando la respuesta de anticuerpos generada por diferentes programas de revacunación.

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en una granja de conejos ubicada en España. Para el estudio, se reclutaron conejas reproductores de aproximadamente 2 meses de edad y se distribuyeron aleatoriamente en 3 grupos de 77 animales cada uno. Todos los animales fueron vacunados con una primera dosis de MIXOHIPRA®-H (HIPRA, España) y fueron revacunados a los 6 meses (Grupo A), a los 4 y 8 meses (Grupo B) y a los 3 y 6 meses (Grupo C). La vacuna se administró por vía intradérmica siguiendo las instrucciones del fabricante. Se tomaron muestras de sangre (30 por grupo) periódicamente hasta nueve meses después de la vacunación.

Las muestras de suero fueron analizadas mediante un ELISA indirecto comercial contra MYXV (HIPRA, España) para determinar la presencia y los títulos de anticuerpos contra MYXV. Los títulos de anticuerpos se indicaron como índice relativo porcentual (IRPC). Los valores de corte positivo y negativo fueron 2 y 1 IRPC respectivamente.

Los gráficos y las comparaciones estadísticas fueron realizados con GraphPad (Prism). Se utilizaron las pruebas Kruskal-Wallis y Mann-Whitney U para comparar los niveles de IRPC entre los grupos. El nivel de significancia se estableció en 5%.

Resultados y discusión

La vacunación inicial generó una respuesta inmune de anticuerpos contra la Mixomatosis en los tres grupos, tal y como se ha descrito previamente por otros autores (Dalton *et al.*, 2015). Al comparar la respuesta de anticuerpos de los grupos B y C, revacunados a intervalos cortos, con el grupo revacunado con el intervalo estándar (Grupo A), no se detectó ninguna diferencia estadísticamente significativa (Pruebas de Kruskal-Wallis y Mann-Whitney U, $p > 0,05$) (**Figura 1**).

Este resultado sugiere que la administración frecuente de la vacuna no disminuyó la respuesta de anticuerpos preexistente, aunque tampoco se observó un refuerzo de la respuesta. Por lo tanto, este hallazgo sugiere que la revacunación frecuente podría ser una solución para garantizar el mantenimiento de una inmunidad

adecuada en aquellas granjas que enfrentan situaciones desafiantes de la enfermedad y manejo, lo que podría crear subpoblaciones de animales negativos.

Autores previos han descrito un hallazgo similar, donde la infección solo aumentó ligeramente la respuesta de anticuerpos en conejos vacunados por vía intradérmica (Dalton *et al.*, 2015). La respuesta de anticuerpos no correlaciona directamente con la protección frente a mixomatosis, por lo que se necesita más estudios para esclarecer los efectos del refuerzo en la la protección proporcionada por la vacuna o en otros componentes del sistema inmune.

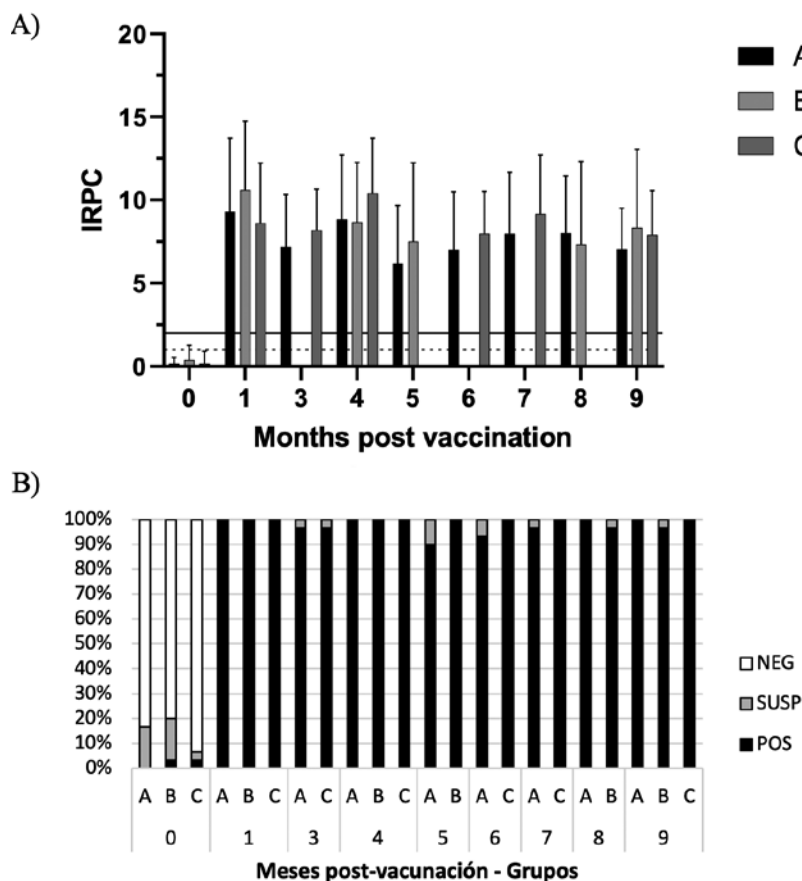
Estos resultados indican que la administración recurrente de MIXOHIPRA® H para la revacunación de conejas adultas no disminuye la respuesta de anticuerpos preexistente. Esta práctica podría ayudar a compensar errores en la administración y a mantener al día la vacunación, evitando así la generación de subpoblaciones de animales seronegativos en granjas con altas tasas de reposición.

Agradecimientos: los autores desean agradecer a los técnicos de laboratorio, veterinarios y cuidadores de animales de CEYC y al departamento de I+D de HIPRA.

Bibliografía

- Dalton KP, Nicieza I, de Llano D, Gullón J, Inza M, Petralanda M, Arroita Z, Parra F. 2015. Vaccine breaks: Outbreaks of myxomatosis on Spanish commercial rabbit farms. *Vet Microbiol*, 178(3-4):208-16.
- Villafuerte R, Castro F, Ramírez E, Cotilla I, Parra F, Delibes-Mateos M, Recuerda P, Rouco C. 2017. Large-scale assessment of myxomatosis prevalence in European wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) 60years after first outbreak in Spain. *Res Vet Sci Oct*; 114:281-286.

Figura 1. Respuesta de anticuerpos contra MYXV. Los resultados se representan como A) promedio y desviación estándar de los valores de IRPC y B) porcentaje de muestras positivas. Las líneas continuas y discontinuas representan los puntos de corte positivos y negativos, respectivamente. *Solo se analizaron 10 muestras por grupo. Los grupos A, B y C fueron revacunados cada 6, 4 y 3 meses, respectivamente.



Villafuerte R, Castro F, Ramírez E, Cotilla I, Parra F, Delibes-Mateos M, Recuerda P, Rouco C. 2017. Large-scale assessment of myxomatosis prevalence in European wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) 60years after first outbreak in Spain. *Res Vet Sci Oct*; 114:281-286.

Evaluación de la eficacia de YURVAC® RHD frente a una cepa de RHDV2 altamente virulenta aislada recientemente

Efficacy evaluation of YURVAC® RHD against a current highly virulent RHDV2 strain

Perozo E, Fontseca M, Nadal G, Montbrau C, Gascon-Torrens S*, March R, Sitjà M.

HIPRA, Avinguda de la Selva 135, 17170, Amer, Spain

*sandra.gascon@hipra.com

Resumen

YURVAC® RHD es una nueva vacuna recombinante destinada a la inmunización activa de conejos a partir de los 30 días de edad para reducir la mortalidad frente a la enfermedad hemorrágica del conejo (RHD) causada por la cepa clásica (RHDV) y del tipo 2 (RHDV2) del virus. Recientemente se ha detectado un aumento en la virulencia de las cepas de RHDV2 que circulan actualmente. Por este motivo, se evaluó la eficacia de YURVAC® RHD frente a una cepa de RHDV2 altamente virulenta que circula actualmente. En 2010, surgió una variante del virus (RHDV2), que se propagó rápidamente por todo el mundo y mostró una mayor prevalencia que los aislados de RHDV en conejos de granja y adultos. Sin embargo, una de las características más relevantes de este patógeno es que afecta a los gazapos. Recientemente, se ha informado sobre un aumento en la patología de las cepas actuales. Por esta razón, se evaluó la eficacia de una dosis de YURVAC® RHD contra una cepa altamente virulenta de RHDV2 actualmente en circulación. El estudio se realizó mediante la administración subcutánea de una sola dosis a conejos de 30 días de edad. La eficacia se evaluó mediante un desafío experimental contra una cepa altamente virulenta de RHDV2 aislada en los Países Bajos en 2022, realizado 14 días después de la vacunación. Los resultados obtenidos en este ensayo respaldan plenamente las afirmaciones de eficacia para reducir la mortalidad causada por cepas altamente virulentas de RHDV2, demostrando la eficacia de la vacuna.

Palabras clave: RHDV, RHDV2, altamente virulenta, YURVAC® RHD

Abstract

YURVAC® RHD is a new recombinant vaccine intended for active immunization of rabbits from the age of 30 days to reduce mortality caused by classical Rabbit Haemorrhagic Disease (RHDV) and the variant (RHDV2). In 2010, a variant of the virus (RHDV2) emerged, spreading worldwide within a short period of time and showing higher prevalence than RHDV isolates in kits and adult rabbits. But one of the most relevant characteristics of this pathogen is that it affects rabbit kits. Recently, an increase in the pathology of current strains was reported. For this reason, the efficacy of a dose of YURVAC® RHD was evaluated against a highly virulent currently circulating strain of RHDV2. The study was carried out with the subcutaneous administration of a single dose to 30-day-old rabbits. Efficacy was evaluated by an experimental challenge against a highly virulent RHDV2 strain isolated in The Netherlands in 2022, performed 14 days after vaccination. The results obtained in this trial fully support the efficacy claims of reducing mortality caused by highly virulent strains of RHDV2, demonstrating the efficacy of the vaccine.

Keywords: RHDV, RHDV2, highly virulent, YURVAC® RHD.

Introducción

La vacunación contra la enfermedad hemorrágica del conejo (RHD) es la principal medida de protección frente a esta enfermedad. YURVAC® RHD es una nueva vacuna recombinante indicada para la inmunización activa de conejos a partir de los 30 días de edad para reducir la mortalidad causada por la cepa clásica (RHDV) y del tipo 2 (RHDV2), incluidas cepas altamente virulentas. Recientemente se han detectado nuevas cepas de RHDV2 que se caracterizan por provocar una mayor mortalidad en conejos jóvenes y afectar a animales más adultos (Le Minor, 2019).

El objetivo de este estudio fue demostrar la eficacia de YURVAC® RHD contra una cepa altamente virulenta de RHDV2 aislada recientemente en 2022 en Holanda.

Material y métodos

Se seleccionaron 21 conejos de 30 días de vida, libres de anticuerpos frente a RHDV y RHDV2. Se dividieron en dos grupos; un grupo vacunado con YURVAC® RHD (n=15) y un grupo control (n=6) que recibió placebo PBS. Todos los animales fueron vacunados por la vía subcutánea. A los 14 días post-vacunación (dpv), todos los animales fueron infectados experimentalmente por vía intramuscular para evaluar la eficacia de la vacuna. La cepa utilizada fue aislada durante un brote en unos conejos en Holanda en 2022.

Se registraron los signos clínicos generales y la mortalidad dos veces al día durante 14 días después del desafío. El estado serológico de los animales se evaluó mediante la técnica de inhibición de la hemaglutinación (IH) para la detección de anticuerpos frente a RHDV y RHDV2 en muestras de sangre el día 0 de la vacunación y el día de la infección. Se analizaron muestras de hígado para evaluar la presencia de RHDV2 y confirmar la causa de la muerte. La mortalidad se evaluó mediante la prueba de Chi-cuadrado.

Resultados y discusión

Todos los conejos incluidos en el estudio estaban libres de anticuerpos frente a RHDV y RHDV2 antes de la vacunación. Todos los animales vacunados se convirtieron después de la vacunación y los animales de control después de la infección.

Los resultados de mortalidad mostraron una tasa de supervivencia del 100% en el grupo vacunado con YURVAC® RHD y una tasa de supervivencia del 0% en el grupo control, lo que confirma la alta virulencia de la cepa (Figura 1). Todas las muertes del grupo de control se informaron entre 24 y 72 horas después del desafío. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos, lo que confirma la eficacia de YURVAC® RHD contra cepas altamente virulentas.

Las muestras de hígado confirmaron que todos los animales del grupo control murieron debido a RHDV2. El grupo vacunado no mostró ningún signo clínico durante todo el estudio.

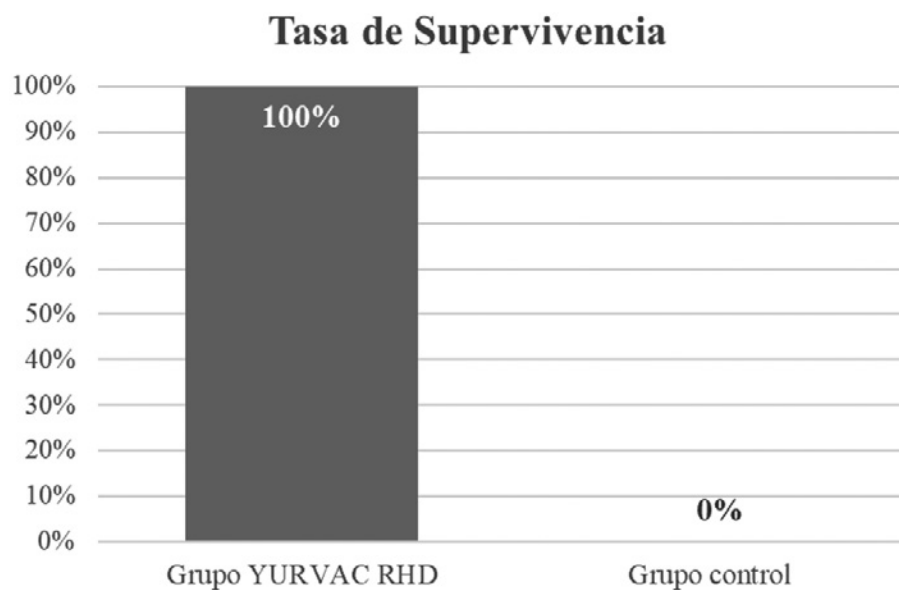
Estos resultados respaldan los obtenidos en los estudios de eficacia realizados con otra cepa altamente virulenta aislada en Francia en 2020 (Perozo, 2024) y reafirman la indicación de YURVAC® RHD para la protección frente a cepas de RHDV2 altamente virulentas.

Agradecimientos: los autores desean agradecer a los técnicos de laboratorio, veterinarios y cuidadores de animales de CEYC y al Departamento de I+D de HIPRA.

Bibliografía

- Le Minor, O., Boucher S., Joudou L., Mellet R., Sourice M., Le Moullec T., Nicolier A., Beilvert F., Sigognault-Flochlay A. 2019. Rabbit haemorrhagic disease: experimental study of a recent highly pathogenic GI. 2/ RHDV2/b strain and evaluation of vaccine efficacy. *World Rabbit Sci.*, 27.3, 143-156.
- Perozo E., Fontseca M., Acal L., Gascon-Torrens S., March R., Sitjà M. 2024. YURVAC RHD vaccine against RHDV and RHDV2 [Oral communication, O126]. ICARE Congress, Ghent, Belgium.

Figura 1. Tasa de supervivencia después del desafío con la cepa de RHDV2 altamente virulenta.



Evidencia serológica de una vacunación efectiva con YURVAC RHD en 53 conejas, de diferentes grupos de edad, en una granja comercial

Serological evidence of effective RHDV vaccination by YURVAC RHD in 53 does, with different age groups, in an industrial rabbitry

Pinto FF^{1,2,3,4*}, Abrantes J^{3,4,5}, Ferreira PG^{2,6,7,8}, Lopes AM^{2,3,4,6}, Pereira L^{3,4}, Marcos R⁸

¹ HIPRA, Malveira, Portugal.

² UMIB - Unit for Multidisciplinary Research in Biomedicine, ICBAS - School of Medicine and Biomedical Sciences, University of Porto, Porto, Portugal.

³ CIBIO - Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, InBIO Laboratório Associado, Universidade do Porto, Vairão, Portugal.

⁴ BIOPOLIS Program in Genomics, Biodiversity and Land Planning, CIBIO, Vairão, Portugal.

⁵ Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

⁶ ITR - Laboratory for Integrative and Translational Research in Population Health, University of Porto, Porto, Portugal.

⁷ RISE - Health Research Network, University of Porto, Porto, Portugal;

⁸ ICBAS - School of Medicine and Biomedical Sciences, University of Porto, Porto, Portugal.

* filipe.pinto@hipra.com

Resumen

La Enfermedad Hemorrágica del Conejo (RHD) es una enfermedad viral altamente mortal y contagiosa causada por *Lagovirus europaeus*, perteneciente a la familia *Caliciviridae*. Desde su primera detección en China en 1984, el RHD virus (RHDV) se ha propagado globalmente, causando una elevada mortalidad en conejos silvestres y de granja. Se han identificado dos serotipos patológicos, GI.1 y GI.2, siendo GI.2 una variante altamente transmisible que emergió en 2010 y afecta a un rango más amplio de hospedadores, incluidos conejos jóvenes. Diversos estudios demuestran un aumento en la virulencia de los serotipos GI.2, remarcando la necesidad de nuevas estrategias de vacunación. Este estudio evaluó la respuesta inmunitaria de 53 conejas reproductoras de distintos grupos de edad en una granja intensiva de Braga, Portugal, tras la vacunación con YURVAC RHD® (Laboratorios HIPRA). Se realizó un ensayo ELISA indirecto para determinar los niveles de anticuerpos contra GI.1 y GI.2. Los resultados mostraron una tasa de seroconversión del 100%, con títulos elevados de IgG en todos los individuos analizados, lo que indica una respuesta humoral fuerte y sostenida. No se observaron diferencias significativas en los niveles de anticuerpos entre conejas jóvenes y adultas, demostrando que la edad no afectó la eficacia de la vacuna. Estos hallazgos confirman la efectividad de YURVAC RHD® en la inducción de respuestas inmunogénicas robustas contra GI.1 y GI.2. La vacunación sigue siendo el método más eficaz para el control del RHD. Futuros estudios deberían centrarse en la cinética de los anticuerpos a largo plazo, la interacción entre la inmunidad inducida por la vacuna y *Lagovirus* no patógenos, y la duración de la inmunidad materna en gazapos para optimizar las estrategias de vacunación en la cunicultura comercial.

Palabras clave: Enfermedad Hemorrágica del Conejo, *Lagovirus europaeus*, GI.1 y GI.2, YURVAC RHD®, ELISA.

Abstract

Rabbit Hemorrhagic Disease (RHD) is a highly fatal and contagious viral disease caused by *Lagovirus europaeus*, a member of the *Caliciviridae* family. Since its first detection in China in 1984, the RHD virus (RHDV) has spread globally, leading to high mortality rates in both wild and farmed rabbits. Two pathogenic serotypes, GI.1 and GI.2, have been identified, with GI.2 emerging in 2010 as a highly transmissible variant affecting a broader host range, including young rabbits. Various studies have demonstrated an increase in the virulence of GI.2 serotypes, emphasizing the need for new vaccination strategies. This study evaluated the

immune response of 53 breeding does from different age groups in an intensive rabbit farm in Braga, Portugal, following vaccination with YURVAC RHD® (HIPRA Laboratories). An indirect ELISA assay was performed to determine antibody levels against Gl.1 and Gl.2. The results showed a 100% seroconversion rate, with high IgG titers across all analyzed individuals, indicating a strong and sustained humoral immune response. No significant differences in antibody levels were observed between young and adult does, demonstrating that age did not impact vaccine efficacy. These findings confirm the effectiveness of YURVAC RHD® in eliciting robust immunogenic responses against Gl.1 and Gl.2. Vaccination remains the most effective method for RHD control. Future studies should focus on long-term antibody kinetics, interactions between vaccine-induced immunity and non-pathogenic Lagoviruses, and the duration of maternal immunity in kits to optimize vaccination strategies in commercial rabbit farming.

Keywords: Rabbit Hemorrhagic Disease, *Lagovirus europaeus*, Gl.1 y Gl.2, YURVAC RHD®, ELISA.

Introducción

La RHD es una enfermedad viral grave y altamente contagiosa causada por *Lagovirus europaeus*, un miembro de la familia *Caliciviridae* (Abrantes *et al.*, 2012). Identificado por primera vez en China en 1984, el RHDV se ha vuelto endémico en varias regiones del mundo, causando una mortalidad significativa y pérdidas económicas en poblaciones de conejos comerciales y silvestres (Abrantes *et al.*, 2012; Pinto *et al.*, 2025). Se han caracterizado dos genotipos principales, Gl.1 (RHDV clásico) y Gl.2 (RHDV2/b), con la aparición de Gl.2 en 2010 como una variante altamente transmisible que afecta a un rango más amplio de hospedadores, conejos jóvenes y otras especies (Pinto *et al.*, 2025; Tokarz-Deptuła *et al.*, 2024). La existencia de estos dos serotipos y la aparición de cepas altamente patogénicas han resaltado la necesidad de actualizar y reformular las vacunas comerciales existentes.

El RHDV ataca principalmente el hígado, causando necrosis hepática fulminante y coagulación intravascular diseminada (CID), lo que conduce a la muerte rápida (O'Toole *et al.*, 2022; Pinto *et al.*, 2025). El virus se propaga por contacto directo con conejos infectados o indirectamente a través de fómites, vectores insectiles y contaminación ambiental (Abrantes *et al.*, 2012). Las respuestas inmunitarias tempranas contra Gl.2 incluyen la regulación al alza de citocinas como TNF- α , IL-6 e IL-1 β en el hígado y el bazo, lo que indica una fuerte reacción inmunitaria innata, aunque esta respuesta suele ser insuficiente para evitar desenlaces fatales (O'Toole *et al.*, 2022). Algunas poblaciones de conejos han desarrollado resistencia genética al RHDV debido a presiones selectivas, y se han identificado calicivirus no patógenos en conejos (RCVs), que podrían desempeñar un papel en la inducción de inmunidad cruzada en ciertas poblaciones (Tokarz-Deptuła *et al.*, 2024).

La vacunación sigue siendo la estrategia más eficaz y eficiente para el control del RHDV (Li *et al.*, 2023; Pinto *et al.*, 2025). Las vacunas contra Gl.1 (basadas en RHDV clásico) fueron inicialmente exitosas en el control de brotes; sin embargo, la aparición de Gl.2 las hizo ineficaces debido a diferencias antigénicas entre los genotipos (Li *et al.*, 2023). Se han desarrollado vacunas inactivadas específicas para Gl.2, que han demostrado una alta eficacia en la prevención de la mortalidad en conejos (Pinto *et al.*, 2025). Las vacunas recombinantes basadas en la proteína VP60 han demostrado ser inmunogénicas y capaces de inducir una respuesta humoral protectora. Estudios han demostrado que las vacunas basadas en VP60 generan fuertes respuestas de anticuerpos y confieren protección contra Gl.2 (Li *et al.*, 2023). La vacunación con formulaciones basadas en VP60 induce respuestas IgG e IgM robustas, esenciales para la inmunidad a largo plazo (Li *et al.*, 2023).

Los anticuerpos maternos confieren inmunidad pasiva a los gazapos, pero desaparecen tras 30-40 días, creando una ventana de susceptibilidad (Pinto *et al.*, 2025). A la luz de la nueva vacuna comercial YURVAC RHD®, introducida en el mercado de la cunicultura portuguesa en 2024, el presente estudio evaluó el estado inmunitario de 53 hembras reproductoras de diferentes grupos de edad en una explotación intensiva con 1000 conejas reproductoras ubicada en Braga, Portugal.

Material y métodos

Para inferir el estado serológico del criadero, realizamos un ensayo ELISA indirecto siguiendo el protocolo de Bárcena *et al.*, 2015. En resumen, partículas similares al virus (VLPs) derivadas de Gl.1 o Gl.2 se adsorbieron a placas ELISA Nunc Maxisorp a 100 ng/pozo en tampón PBS y se incubaron durante la noche a 4 °C. Se bloquearon con un 5% de leche descremada en PBS y luego se analizaron con muestras de suero diluidas 1:200. Se utilizó un anticuerpo secundario IgG anti-conejo (H+L) conjugado con HRP a 1:4.000, seguido de la adición

de la solución sustrato (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina, TMB). Las reacciones se detuvieron con ácido fosfórico 1M y el desarrollo de color se midió a 450 nm. Los pasos de bloqueo e incubación con sueros y anticuerpo secundario se realizaron a 37 °C durante una hora. Entre cada paso, las placas se lavaron tres veces con PBS-0,05% Tween. Se incluyeron controles positivos y negativos en cada placa. Se consideraron positivas las muestras con valores de absorbancia iguales o superiores a 0,2 unidades OD sobre el fondo (media de los controles negativos/blancos).

Resultados y discusión

La evaluación del estado inmunitario de las 53 hembras reproductoras de diferentes grupos de edad proporcionó evidencia serológica sólida de una fuerte respuesta inmunogénica a la vacuna YURVAC RHD®. Los ensayos ELISA realizados en todas las muestras mostraron títulos de anticuerpos consistentemente elevados, demostrando una potente respuesta humoral contra Gl.1 y Gl.2. La tasa de seroconversión fue del 100%, con niveles de IgG notablemente elevados en todos los individuos analizados, independientemente del grupo de edad. La uniformidad de los títulos de anticuerpos sugiere que la vacuna induce una respuesta inmunitaria sostenida en toda la población reproductora, asegurando una protección inmunológica amplia contra ambos genotipos patogénicos de RHDV. No se observaron diferencias significativas en las respuestas inmunitarias entre hembras jóvenes y adultas, lo que indica que la edad no afectó la eficacia de la vacuna en esta población.

Los resultados de este estudio coinciden con hallazgos previos que respaldan la eficacia de las vacunas contra RHDV en la prevención de infecciones por Gl.1 y Gl.2 (Li *et al.*, 2023; Pinto *et al.*, 2025). La fuerte positividad en ELISA en todas las hembras evaluadas confirma que la vacuna recombinante YURVAC RHD® induce una respuesta inmunitaria robusta y efectiva contra ambas cepas. Esto es particularmente relevante, ya que las vacunas clásicas basadas en Gl.1 eran ineficaces contra Gl.2 debido a diferencias antigénicas (Li *et al.*, 2023), destacando la importancia de utilizar vacunas con capacidad de protección cruzada. Además, la vacunación rutinaria cada seis meses en esta granja intensiva aseguró que la inmunidad se mantuviera estable a lo largo del tiempo, reforzando la eficacia del esquema de vacunación en la protección contra brotes de Gl.1 y Gl.2.

Una preocupación clave en la cunicultura es la duración de la inmunidad inducida por la vacuna y la necesidad de dosis de refuerzo para mantener la protección (Pinto *et al.*, 2025). Nuestro estudio apoya la recomendación de protocolos de revacunación semestrales, como se implementaron en esta granja, para mantener una cobertura inmunitaria óptima. Dado que tanto Gl.1 como Gl.2 presentan altas tasas de mortalidad y una persistencia ambiental prolongada, garantizar una inmunidad ininterrumpida mediante la administración regular de refuerzos es fundamental.

Los hallazgos de este estudio proporcionan evidencia sólida de que la vacuna YURVAC RHD® induce y mantiene altos niveles de inmunidad contra ambos genotipos patogénicos de RHDV, Gl.1 y Gl.2, en hembras reproductoras. La alta positividad en ELISA subraya la capacidad de la vacuna para generar una respuesta humoral robusta y sostenida, asegurando una protección integral.

Agradecimientos: Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT)-Portugal supported the PhD fellowship of Filipe Fontes Pinto (2022.10138. BD) and the Junior Researcher grant of Ana M. Lopes (CEECIND/01388/2017). This work was supported by projects UIDP/CVT/00772/2020 (CECAV) and LA/P/0059/2020 (AL4AnimalS).

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, Article 12.
- Bárcena, J., Guerra, B., Angulo, I., González, J., Valcárcel, F., Mata, C. P. Alejo, A. (2015). Comparative analysis of rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV) and new RHDV2 virus antigenicity, using specific virus-like particles. *Vet Res*, 46, 106.
- Li, Z. M., Song, K. M., Du, Y. Z., Zhang, Z. L., Fan, R. P., Zheng, P. M., & Liu, J. Z. (2023). Diagnosis of a Rabbit Hemorrhagic Disease Virus 2 (RHDV2) and the Humoral Immune Protection Effect of VP60 Vaccine. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(8), 6605-6617.
- O'Toole, A. D., Mohamed, F. M., Zhang, J., & Brown, C. C. (2022). Early pathogenesis in rabbit hemorrhagic disease virus 2. *Microbial Pathogenesis*, 173, Article 105814.

- Pinto, F. F., Abrantes, J., Ferreira, P. G., & Marcos, R. (2025). Rabbit Hemorrhagic Disease. In J. Simões (Ed.), *Encyclopedia of Livestock Medicine for Large Animal and Poultry Production* (pp. 1-9). Springer Nature Switzerland.
- Tokarz-Deptuła, B., Kulus, J., Baraniecki, Ł., Stosik, M., & Deptuła, W. (2024). Characterisation of *Lagovirus europaeus* GI-RHDVs (Rabbit Haemorrhagic Disease Viruses) in Terms of Their Pathogenicity and Immunogenicity. *Int J Mol Sci*, 25(10).

NOTAS





Comunicación por y para el sector agroalimentario

En enero de 1929, con el lanzamiento de la revista **Agricultura**, Editorial Agrícola Española comenzó su camino para convertirse en la empresa de referencia en comunicación agroalimentaria en España.

A ella le siguieron la edición de libros técnicos desde los años 70 y la revista **Ganadería** desde 2000, ya con los respectivos soportes digitales.

Un modelo de comunicación 360° que se ve completado en 2010 con las Jornadas y Tertulias **"Agrícola Café"**.

www.revistaagricultura.com | www.revistaganaderia.com

Sabemos de lo que hablamos y cómo transmitirlo

El trabajo desarrollado en los 80 primeros años de nuestra historia nos ha permitido aplicar este conocimiento en estrategias de comunicación a nuestros clientes. De esta manera surge **Henar Comunicación**, como la rama de servicios de comunicación del grupo. Si necesitas comunicación integral, un evento, una publicación o contenidos de calidad, somos tu empresa.

www.editorialagricola.com

Explicando el sector agroalimentario a la sociedad

Hoy en día comunicar por y para el sector agroalimentario ya no es suficiente. La población urbana vive de espaldas a los alimentos, que no son otra cosa que el fruto de nuestro sector. El proyecto **Conocer la Agricultura y la Ganadería** está llamado a cubrir esta necesidad de formación de nuestros consumidores.

Porque lo que no se conoce no se valora.

www.conocerlaagricultura.com



LA CALIDAD EUROPEA QUE SE DISFRUTA EN FAMILIA

CARNE DE CONEJO

Garantizar la mejor calidad en la producción de **carne de conejo** es una inspiración para el sector. Estamos orgullosos de cumplir con el modelo más exigente, el **Europeo**.



RECOMENDACIONES
DIETÉTICAS
PARA CARNE

Financiado por la Unión Europea. Las opiniones y puntos de vista expresados solo comprometen a su(s) autor(es) y no reflejan necesariamente los de la Unión Europea o de la Agencia Ejecutiva Europea de Investigación (REA). Ni la Unión Europea ni la autoridad otorgante pueden ser considerados responsables de ellos.

INTERCUN 



Cofinanciado por
la Unión Europea

LA UNIÓN EUROPEA RESPALDA
LAS CAMPAÑAS QUE PROMUEVEN
LA CALIDAD DE LOS PRODUCTOS AGRÍCOLAS.

ENJOY
IT'S FROM
EUROPE

