

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
Grado Universitario en Ingeniería Agroambiental y Agroalimentaria



Emisividad de la temperatura corporal y calidad seminal de dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada en conejo

TRABAJO FIN DE GRADO

Julio 2023

AUTOR: Marina Baeza García

DIRECTORAS: María de la Luz García Pardo
María José Argente Carrascosa

COTUTOR: Daniel Serrano Jara

INFORME DE EVALUACIÓN DE INVESTIGACIÓN RESPONSABLE DE 1. TFG (Trabajo Fin de Grado)

Elche, a 31/03/2023

Nombre del tutor/a	MARIA DE LA LUZ GARCIA PARDO
Nombre del alumno/a	MARINA BAEZA GARCIA
Tipo de actividad	1. Adherido a un proyecto autorizado
Título del 1. TFG (Trabajo Fin de Grado)	Emisividad de la temperatura corporal y calidad seminal de dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada en conejo.
Evaluación Riesgos Laborales	No procede
Evaluación Ética	No procede
Registro provisional	230327083353
Código de Investigación Responsable	TFG.GAA.MDLLGP.MBG.230327
Caducidad	2 años

Se considera que la presente actividad no supone riesgos laborales adicionales a los ya evaluados en el proyecto de investigación al que se adhiere. No obstante, es responsabilidad del tutor/a informar y/o formar al estudiante de los posibles riesgos laborales de la presente actividad.

La necesidad de evaluación ética del trabajo titulado: **Emisividad de la temperatura corporal y calidad seminal de dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada en conejo.** ha sido realizada en base a la información aportada en el formulario online: "TFG/TFM: Solicitud Código de Investigación Responsable (COIR)", habiéndose determinado que no requiere ninguna evaluación adicional. Es importante destacar que si la información aportada en dicho formulario no es correcta este informe no tiene validez.

Por todo lo anterior, **se autoriza** la realización de la presente actividad.

Atentamente,

Alberto Pastor Campos
Secretario del CEII
Vicerrectorado de Investigación

Domingo L. Orozco Beltrán
Presidente del CEII
Vicerrectorado de Investigación

Información adicional:

- En caso de que la presente actividad se desarrolle total o parcialmente en otras instituciones es responsabilidad del investigador principal solicitar cuantas autorizaciones sean pertinentes, de manera que se garantice, al menos, que los responsables de las mismas están informados.
- Le recordamos que durante la realización de este trabajo debe cumplir con las exigencias en materia de prevención de riesgos laborales. En concreto: las recogidas en el plan de prevención de la UMH y en las planificaciones preventivas de las unidades en las que se integra la investigación. Igualmente, debe promover la realización de reconocimientos médicos periódicos entre su personal; cumplir con los procedimientos sobre coordinación de actividades empresariales en el caso de que trabaje en el centro de trabajo de otra empresa o que personal de otra empresa se desplace a las instalaciones de la UMH; y atender a las obligaciones formativas del personal en materia de



prevención de riesgos laborales. Le indicamos que tiene a su disposición al Servicio de Prevención de la UMH para asesorarle en esta materia.

La información descriptiva básica del presente trabajo será incorporada al repositorio público de Trabajos fin de Grado y Trabajos Fin de Máster autorizados por la Oficina de Investigación Responsable de la Universidad Miguel Hernández. También se puede acceder a través de <https://oir.umh.es/tfg-tfm/>



“Emisividad de la temperatura corporal y calidad seminal de dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada en conejo”

Emissivity of body temperature and semen quality of two lines selected for reaching litter size in rabbits

Resumen: Los objetivos del trabajo han sido analizar la emisividad de temperatura corporal con termografía de infrarrojo (TIR) en conejo tras un procedimiento rutinario de estrés como la extracción espermática y estudiar la respuesta correlacionada en emisividad de la temperatura corporal y la calidad espermática de dos líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada: línea High y línea Low seleccionadas para incrementar y disminuir la variabilidad del tamaño de camada, respectivamente. La TIR se realizó en 20 machos (50% de cada línea) en el globo ocular, la nariz y el pabellón auricular desde el minuto 0 (basal) al 90, con dos extracciones de semen después del minuto 0 y 30. Se midió la calidad espermática: volumen, gel, motilidad, concentración, producción total y porcentaje de espermatozoides normales, con gota, anormales de cabeza, cola y pieza intermedia, acrosomas reaccionados y espermatozoides vivos y muertos. Los análisis estadísticos se realizaron con metodología bayesiana. Tras la primera extracción, la temperatura se incrementó en el minuto 1 en el globo ocular (36,49 °C), en la nariz (34,20°C) y en el pabellón auricular (34,4 °C); tras la segunda, el valor máximo se localizó en el minuto 35 (36,46 °C) en el globo ocular, en el 31 (34,95 °C) en la nariz y en el 40 (37,37 °C) en el pabellón auricular. Con respecto a las respuestas correlacionadas, ambas líneas mostraron similar temperatura basal en el globo ocular y la nariz. En el pabellón auricular la línea Low (31,54 °C) fue inferior a la línea High (34,54 °C). Tras la primera extracción la temperatura máxima en globo ocular la alcanzaron en el minuto 30 ambas líneas, en el caso de la nariz la máxima temperatura se ha alcanzó en el minuto 15 siendo mayor en la línea Low (35,04 °C), en el pabellón auricular la temperatura máxima se alcanzó en el minuto 10 siendo, al igual que en la nariz, mayor en la línea Low (37,73 °C). Ambas líneas presentaron valores similares para todos los caracteres excepto, el porcentaje de espermatozoides vivos que fue superior en la línea Low (88,77% vs 79,55%; $P = 95\%$). En conclusión, la TIR del globo ocular, la nariz y el pabellón auricular se muestra como herramienta adecuada para la valoración de los cambios de temperatura promovidos por la exposición a un estímulo de estrés agudo. La selección por variabilidad del tamaño de camada parece que no ha producido una respuesta correlacionada sobre la calidad del semen en machos que inician su vida productiva, pero sí en su respuesta al estrés medido con TIR.

Palabras clave: Resiliencia, selección, viabilidad espermática, estrés, temperatura, termografía.

Abstract: The objectives of the work have been to analyze the emissivity of body temperature with infrared thermography (IRT) in rabbits after a routine stress procedure such as sperm extraction and to study the correlated response in emissivity of body temperature and sperm quality of two selected lines. divergently by litter size variability: High line and Low line selected to increase and decrease litter size variability, respectively. The IRR was performed in 20 males (50% of each line) on the eyeball, nose, and auricle from 0 (baseline) to 90 minutes, with two semen extractions after 0 and 30 minutes. sperm

quality: volume, gel, motility, concentration, total production and percentage of normal sperm, with gout, abnormal head, tail and midpiece, reacted acrosomes and live and dead sperm. Statistical analyzes were performed using Bayesian methodology. After the first extraction, the temperature increased in minute 1 in the eyeball (36.49 °C), in the nose (34.20 °C) and in the auricular pavilion (34.4 °C); after the second, the maximum value was located at minute 35 (36.46 °C) in the eyeball, at 31 (34.95 °C) in the nose and at 40 (37.37 °C) in the auricle . Regarding the correlated responses, both lines showed similar basal temperature in the eyeball and nose. In the auricle, the Low line (31.54 °C) was lower than the High line (34.54 °C). After the first extraction, the maximum temperature in the eyeball was reached at minute 30 by both lines. In the case of the nose, the maximum temperature was reached at minute 15, being higher in the Low line (35.04 °C), in the In the auricle, the maximum temperature was reached in minute 10, being, as in the nose, higher in the Low line (37.73 °C). Both lines presented similar values for all characters except the percentage of live sperm, which was higher in the Low line (88.77% vs. 79.55%; P = 95%). In conclusion, the IRR of the eyeball, nose, and auricular pavilion appears to be a suitable tool for assessing temperature changes promoted by exposure to an acute stress stimulus. Selection for litter size variability does not seem to have produced a correlated response on semen quality in males that start their productive life, but it did in their response to stress measured with TIR.

Keywords: Resilience, selection, sperm viability, stress, temperature, thermography.

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y ha sido financiado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.11) y por la Generalitat Valenciana.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Maria de la Luz García, Daniel Serrano y Maria Jose Argente por dejarme ser parte de este proyecto, por su apoyo desinteresado, por su conocimiento y saber, y por esa experiencia tan bonita que viví en León.

Durante estos cuatro años de carrera he conocido a gente que han sido el motivo por el que seguir en los peores momentos, sobre todo a Fatema que ha sido un pilar fundamental en esta gran etapa.

Como olvidarme de mi familia la cual me ha apoyado desde el minuto uno en todas mis decisiones, se han alegrado de cada victoria y me han apoyado en cada fracaso, lo que más me emociona es que se que todos y cada uno de vosotros estáis muy orgullosos de mi.

A mis amigos de siempre, que aunque he estado lejos durante tiempo sentía el apoyo de cada uno de ellos, gracias por estos 19 años, y los que quedan.

Finalmente, a Michael, mi pilar incondicional, el motor de mi vida y el que ha estado allí en los peores y mejores momentos sin permitir que me rinda, gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Situación de importancia en el sector cunícola	9
2.1 Situación mundial	9
2.2 Situación en España	10
1.2 Características reproductivas del conejo	11
1.3 El concepto de estrés	14
1.3.1 Estrés en conejos	15
1.3.2 Medición del estrés en conejos	15
1.4 Mejora genética en el conejo	17
1.4.1 Programas de mejora genética en la UMH	17
2. OBJETIVOS	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1 Material animal	19
3.2 Diseño experimental	19
3.3 Modelo estadístico	20
4. Resultados y discusión	21
4.1 Evaluación del estrés tras la extracción espermática	21
4.2 Respuestas correlacionadas a la selección divergente por variabilidad del tamaño de camada.....	24
4.2.1 Caracteres relacionados con el estrés	24
4.2.2 Calidad espermática	26
5. Conclusión	28
6. Bibliografía	29
7. Anexos	34
7.1 Anexo 1: Investigación presentada en el Symposium de Cunicultura de 2023: Evaluación de la calidad espermática en líneas de conejo seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada	34

7.2 Anexo 2: Investigación presentada en el Symposium de Cunicultura de 2023: Evaluación del estrés con termografía de infrarrojos tras la extracción espermática en conejos	39
---	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de la producción de carne de conejo en España, 2008- 2021. (MAPA, 2022)	10
Figura 2. Mapa de las comunidades autónomas con mayor producción de conejo en España, 2022. (Elaboración propia)	11
Figura 3. Esquema de un testículo de conejo (Megías et al., 2019)	12
Figura 4. Imágenes del globo ocular, nariz y pabellón auricular tomadas con la cámara termográfica @FLIR SC660	19
Figura 5. Evolución de la temperatura del globo ocular. Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar	22
Figura 6. Evolución de la temperatura nasal. Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar	23
Figura 7. Evolución de la temperatura del pabellón auricular. Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar	23
Figura 8. Diferencias de la evolución de la temperatura del globo ocular entre la Línea Low y Línea High	24
Figura 9. Diferencias de la evolución de la temperatura nasal entre la Línea Low y Línea High	25
Figura 10. Diferencias de la evolución de la temperatura del pabellón auricular entre la Línea Low y Línea High	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diferencias de las características del semen (I) entre las líneas Low y High	27
Tabla 2. Diferencias de las características del semen (II) entre las líneas Low y High	28

1. INTRODUCCIÓN

En cunicultura, se están llevando a cabo programas de mejora genética desde hace más de cuatro décadas para incrementar la productividad en las explotaciones ganaderas. Hoy en día, todos los eslabones de la cadena de producción, desde el ganadero hasta el consumidor, están concienciados en producir de forma rentable un producto de calidad y con unos estándares de bienestar (Agea et al., 2020). La selección divergente de dos líneas por variabilidad del tamaño de camada al nacimiento ha conducido a que la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada (línea Low) sea más resistente a enfermedades y al estrés, y por tanto tenga un mayor bienestar animal, que la línea seleccionada para aumentar dicha variabilidad (línea High) (Argente et al., 2019). Además, la productividad de la línea Low es superior a la de la línea High (Blasco et al., 2017).

1.1 Situación de importancia en el sector cunícola

1.1.1 Situación mundial

En los últimos años la carne de conejo ha tenido un pequeño aumento en el consumo debido a que los usuarios buscan una alimentación más sana a través del consumo de carne con menor grasa, aunque en muchos países no se considera un animal de consumo.

El mayor productor de carne de conejo a nivel mundial es China, según la FAO en el 2021 se produjeron cerca de 463.000 toneladas de carne de conejo. Le sigue Corea del Norte, alcanzando una producción de 131.126 toneladas. El tercer país con mayor producción de conejo es Egipto con 72.000 toneladas (FAO, 2021).

En la Unión Europea los países con mayor producción son España, Italia y Francia, los cuales ocupan un 80% de la producción total de Europa. Según el año, predomina un país u otro, aunque los últimos años, España ha sido el líder, seguido de Italia, y por último Francia que ha tenido un descenso de producción (Giusti et al., 2011).

Si hablamos del consumo del conejo a nivel mundial, coincide con los datos expuestos sobre la producción. El principal país consumidor es China pero no consumen para la alimentación sino para la producción de pelo. Los países que le siguen en consumo para alimentación son Corea del Norte y Egipto, además de los tres países europeos con mayor producción y mayor consumo en Europa. Esto se debe a la cultura de estos países y la gastronomía que tienen (Giusti et al., 2011).

El consumo medio mundial se estima en 300 gr de carne de conejo por persona y año. En la Unión Europea, el consumo llega a 1,7 kg por habitante/año, siendo Italia el primer país consumidor con 5,3 kg. Nápoles posee el consumo por habitante más alto del

mundo con 15 kg por año. En China se consumen menos de 10 gr por habitante, puesto que la actividad está orientada a la producción de pelo. En Estados Unidos apenas se alcanza el medio kilo por persona y año (Giusti et al., 2011).

A nivel mundial este sector tiene un comercio exterior muy escaso, siendo el país con mayor exportación España (MAPA, 2022). En cambio, los países con mayores importaciones a nivel mundial en 2021 fueron Alemania y Bélgica, seguido de Francia y Portugal (Giusti et al., 2011).

1.1.2 Situación en España

En España, desde hace unos 8 años hasta la actualidad, se ha producido un descenso de la producción de carne de conejo, llegando a producir en 2021, unas 48.000 toneladas de carne en canal a diferencia de 2015 que se produjeron cerca de 65.000 toneladas (Figura 1; MAPA, 2022).

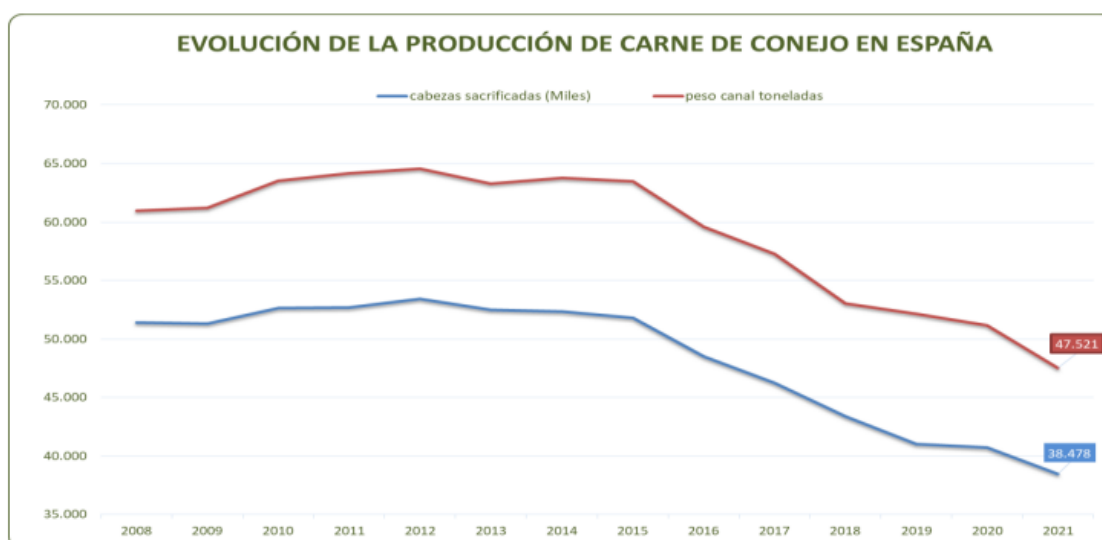


Figura 1. Evolución de la producción de carne de conejo en España, 2008- 2021. (MAPA, 2022)

Si nos centramos en la producción por Comunidades Autónomas en el año 2021, la comunidad autónoma con mayor producción de conejo fue Castilla y León con 21,3% de la producción total, seguida de Cataluña con un 18,7% y Castilla la Mancha con 6,8%, y no muy atrás la Comunidad Valenciana con un 6,4% (Figura 2). Cabe destacar que según el REGA (Registro Explotaciones Ganaderas) hay 3.335 explotaciones cunícolas en toda España, predominando Cataluña como la principal comunidad, pero estas granjas son de tamaño menor que en Castilla y León, las cuales tienen más de 800 madres. En cambio, las comunidades autónomas con granjas más avanzadas y profesionalizadas son la Comunidad Valenciana y Galicia (MAPA, 2022).

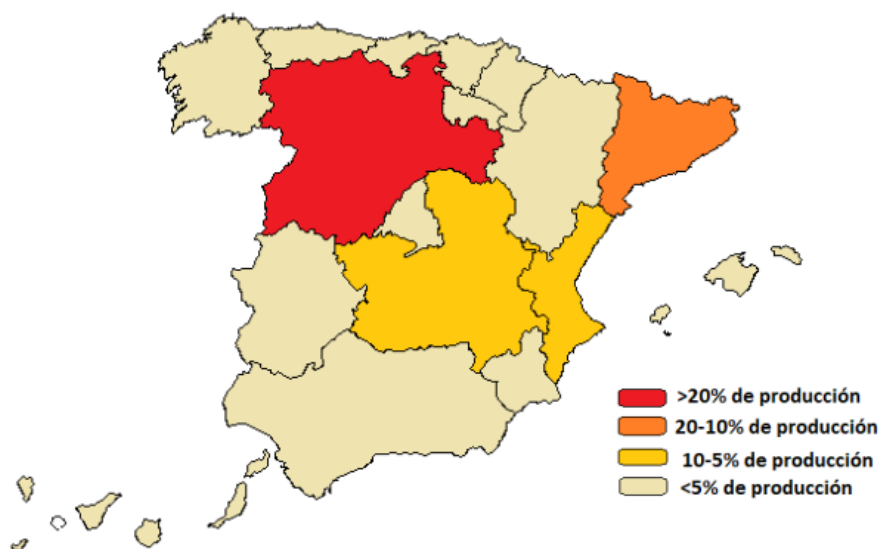


Figura 2. Mapa de las comunidades autónomas con mayor producción de conejo en España, 2022. (Elaboración propia).

En España el conejo se ha considerado un animal para su consumo durante muchos años, tanto el silvestre como el doméstico, pero hace unos años atrás las nuevas generaciones lo están considerando más un animal de compañía, lo que hace que no se consuma a gran escala. A diferencia de otras carnes, el conejo siempre ha sido la carne menos consumida: en 2021 se registró que el consumo de carne de conejo por habitante y año fue de 0,85 kg. Se trata de una cifra mucho menor que en otros tipos de carne como la de vacuno que se consume 10 kg por persona y año, o la de aves que es la más consumida con 14 kg por persona y año (MAPA, 2022).

1.2 Características reproductivas del conejo

En los conejos machos la diferenciación de gónadas comienza en torno al 16º día después de la fecundación de la madre. Durante la fase embrionaria y fetal los testículos de los machos apenas se desarrollan; empiezan a crecer rápidamente a la 5ª semana de vida, y más tarde, a los 84 días de vida se desarrollan los tubos testiculares (Lebas et al., 1986).

Los primeros espermatozoides están presentes, al igual que las pautas de comportamiento sexual, a partir de los tres meses de edad, siendo probable obtener las primeras eyaculaciones en torno a los cuatro meses. A partir de esta edad, la proporción de machos que manifiestan comportamiento de monta y eyaculan dependerá de las condiciones ambientales y de la estirpe genética. En general, la mejor edad para la primera cubrición fértil en estirpes o líneas de formato medio (3,5 a 4,5 kg de peso vivo) se sitúa en torno a los cinco meses, alcanzando la plena producción espermática a los siete u ocho

meses de edad, pudiendo mantener su actividad sexual hasta los cuatro años según la estirpe genética, condiciones ambientales y manejo (Vicente et al., 2014).

Las líneas o razas de gran formato (5 a 7 kg de peso vivo) presentan un inicio reproductivo más tardío, habiendo observado que los comportamientos de monta no se manifiestan hasta los cinco e incluso los seis meses de edad (Vicente et al., 2014).

Cuando el conejo inicia su vida reproductiva la duración de la espermatogénesis es de unos 49 días. La producción testicular diaria de espermatozoides se sitúa en torno a 150-250 millones con notables variaciones genéticas y estacionales, pero la capacidad epididimaria de almacenamiento es limitada (1.300-1.900 millones), encontrándose el 15-20% de los espermatozoides en la cabeza y cuerpo del epidídimo y el 80-85% en la cola del epidídimo (Figura 3). El conducto deferente contiene menos del 10% de los espermatozoides producidos (Theau-Clément et al., 1995).

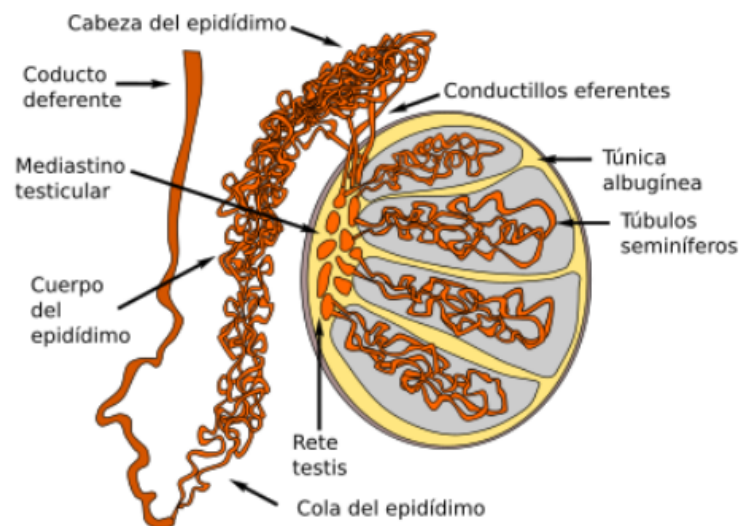


Figura 3. Esquema de un testículo de conejo (Megías et al., 2019)

El eyaculado en el conejo suele tener un volumen de unos 0,3-0,6 ml, presenta un color blanco nacarado en el que pueden observarse pequeñas partículas microscópicas de gel o por el contrario una fracción gelatinosa fácilmente extraíble del eyaculado. El número de espermatozoides que contiene un eyaculado es de 200-600 millones en 0,2 ml de muestra aunque tanto el volumen como la concentración pueden variar según varios factores como el número de extracciones en un día. Las falsas montas, 1 o 2 minutos antes de la cópula, aumentan la concentración del eyaculado. En dos servicios sucesivos el primero actúa como preparación del segundo, menos voluminoso pero más concentrado. Durante los apareamientos posteriores, el volumen de la eyaculación disminuye (Lebas et al., 1986; Yousef, 2005).

En general, el conejo manifiesta un elevado ardor sexual que a diferencia de otras especies, no se corresponde con sus posibilidades de fecundar a una hembra. La mayor parte de los machos de conejo de estirpes de formato medio son capaces de realizar 10-12 montas en un breve lapso de tiempo de 30 a 60 minutos. Este comportamiento provoca en algunos cunicultores un manejo reproductivo inadecuado. De un lado suele existir una proporción insuficiente de machos frente a hembras (menor de 1:15) y de otro, se suele dar una utilización abusiva y poco eficaz de los machos que presentan mayor ardor sexual (Yousef, 2005).

Por tanto, lo correcto para una máxima producción de espermatozoides en el conejo sería utilizar el macho regularmente una vez al día. Si el macho se usa regularmente dos veces al día, cada eyaculado tiene solo la mitad de la concentración de espermatozoides. Por otro lado, si los machos sirven varias veces al día un día a la semana, los 3 o 4 eyaculados pueden estar lo suficientemente concentrados para efectuar la fertilización. Los eyaculados posteriores a 3-4 veces en un día a la semana contienen muy pocos espermatozoides y no pueden efectuar la fertilización con la frecuencia suficiente para que valga la pena (Lebas et al., 1986; Vicente et al., 2014).

La cubrición de una coneja más de una vez puede mejorar ligeramente las posibilidades de desencadenar la ovulación, puesto que esta especie es de ovulación inducida. Sin embargo, en algunas épocas del año un exceso de montas sobre una hembra pueden afectar a la falta de fertilidad de ese macho en una cubrición posterior sobre otra hembra. Estos problemas se acentúan durante el verano, el conejo es exo-endorquido, es decir, tiene la capacidad de regular la superficie de contacto del testículo con la pared abdominal, así consigue un buen sistema de termorregulación de las gónadas pero esto no es suficiente con el calor excesivo ya que las altas temperaturas interfiere en el mecanismo de la espermatogénesis y fertilidad del semen junto al descenso del ardor sexual (Nizza et al., 2003; Contera, 1988).

En general, desde el punto de vista de la utilización de machos para la inseminación artificial, una frecuencia de dos eyaculados por semana, un fotoperiodo 16L:8D y una alimentación rica en ácidos grasos de la serie omega 3 y 6, así como en Zn, Se y/o vitamina E permite obtener una mejora en la producción espermática o en los parámetros espermáticos indicadores de calidad (Pascual et al., 2004; Castellini et al., 2007).

La utilización de la inseminación artificial es muy común en las explotaciones cunícolas con elevado número de hembras, debido a que en muchas ocasiones carecen de machos, por lo que suelen comprar dosis de semen de núcleos de selección. La compra de las dosis seminales tiene como ventaja que suelen ser de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento, en los centros de selección se encargan de la obtención, valoración, conservación, almacenaje y distribución del semen, además analizan las muestras de semen asegurando que los espermatozoides tienen una buena capacidad fecundante. También es interesante la inseminación artificial porque a partir de una

extracción de semen se pueden inseminar a más de 100 hembras (García y Rodríguez, 2002).

1.3 El concepto de estrés

El avance científico-técnico en la producción animal ha permitido ampliar el concepto de bienestar animal durante las últimas décadas. Palumbo et al. (2020) definieron el estrés como cualquier situación capaz de perturbar la homeostasis fisiológica o psicológica. Por otra parte, Luthar et al. (2000) definieron la resiliencia como un proceso de desarrollo dinámico que abarca la capacidad de un individuo para adaptarse positivamente después de una adversidad significativa. Sin embargo, esta aptitud no es similar en todos los animales (Broom, 2011) y una respuesta inadecuada ante un estímulo estresante puede desembocar en el empeoramiento de las condiciones de bienestar y, consecuentemente, en la disminución del rendimiento productivo (Kowalska et al., 2011).

El estrés se puede definir de forma general como una respuesta fisiológica del organismo frente a una alteración, ya sea de origen ambiental o infecciosa (Cano, 2014), esta respuesta implica la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenocortical (HPA) y del sistema simpático-adrenomedular (Möstl y Palme, 2002).

De forma general, el animal ante un estímulo estresante pasa por tres fases en las que primero se percibe e identifica el estímulo por parte del organismo, responde el sistema nervioso y después se expresa el sistema endocrino (De Camargo, 2010):

- ❖ Fase de alarma: la percepción del estímulo estresante.
- ❖ Fase de resistencia: el organismo mantiene una activación fisiológica máxima para superar la amenaza o poder adaptarse.
- ❖ Fase de agotamiento: se produce si el estímulo estresante es continuo o se repite con frecuencia.

Estas alteraciones fisiológicas causadas por el estrés son respuestas rápidas que garantizan la supervivencia de los animales (Wingfield et al., 1997). A corto plazo, una respuesta a un estímulo estresante se desencadena por la activación del sistema nervioso simpático, que libera catecolaminas (norepinefrina y epinefrina) de la médula suprarrenal (Cunningham, 1999). A largo plazo, a través del HPA, actúan la hormona liberadora de corticotropina, la hormona adrenocorticotrópica y los corticosteroides (en conejos, principalmente corticosterona y cortisol) (Kataoka et al., 2014). Ambos sistemas producen la liberación de hormonas que transportadas a través de la sangre, excitan, inhiben o regulan la actividad de los órganos (Nogareda, 1994).

1.3.1 Estrés en conejos

Los conejos a menudo experimentan estrés cuando perciben ciertos estímulos, como el manejo, sistemas de alojamiento y la frecuencia y momento de la reproducción (Plazas et al., 2018). Además, otros factores como trauma, ruido, calor, humedad, factores ambientales, restricción del alimento y agua conducen al animal a un estrés perjudicando al bienestar del animal (Kanaroglou y Akumal, 2013).

La respuesta fisiológica de los conejos al estrés está asociada con la eficiencia de la alimentación, siendo los animales con menor capacidad de reacción al estrés los que muestran el mayor rendimiento (Jaén, 2022). Cabe añadir que la timidez es uno de los principales atributos de los conejos, siendo animales esquivos e independientes (Trocino y Xiccato, 2006), lo que hace más difícil percibir su miedo o estrés agudo. Todo esto se contrapone a las características preferenciales que se seleccionan a la hora de domesticar animales, como la docilidad y el no tener miedo a las personas (Parsons, 1988). Las condiciones ambientales, especialmente la temperatura y la humedad relativa, también afectan tanto al estado fisiológico como a la productividad de los animales (Ogunjimi et al., 2008).

1.3.2 Medición del estrés en conejos

El estrés se mide a través de métodos basados en la evaluación endocrina del sistema nervioso autónomo e inmunológico (Kanaroglou y Akumal, 2013), estos métodos se puede estimar a través de biomarcadores y cambios en la temperatura corporal, utilizando las siguientes técnicas: el análisis de los parámetros bioquímicos en la sangre (Möstl y Palme, 2002) y en las excretas (Von der Ohe y Servheen, 2002) o mediante cambios en la temperatura corporal central (Chen y White, 2006). Estas técnicas están basadas directamente en el animal, definiendo su estado en relación a su organismo, pero según los indicadores podemos observar dos tipos (Plaza et al., 2018):

- ❖ Indicadores de estrés invasivo: generan algún tipo de incomodidad o dolor cuando el animal es sometido a la manipulación del experimento pudiendo alterar los resultados de los indicadores.
- ❖ Indicadores de estrés no invasivos: facilitan la repetición de muestras, ya que no afectan de manera prolongada a las libertades de los animales.

Los análisis bioquímicos en la sangre y en las heces, al igual que en la saliva y el pelo, permiten conocer la concentración de glucocorticoides. En el análisis comparativo de las diferentes matrices destaca las diferencias en el monitoreo de la respuesta de estrés, pues representa la actividad de HPA en diferentes periodos de tiempo (Mormède et al., 2007). Por ejemplo, la medición de sangre y saliva permite valorar cambios agudos en los niveles de cortisol pero no son indicativos de estrés crónico (Cook, 2012), el plasma es el tipo de muestra más utilizado, en cambio la concentración plasmática de glucocorticoides presenta gran variación de ritmos circadianos provocando la difícil comparación de las

muestras en diferentes horas del día. (Mormède et al., 2007), y es muy sensible a factores ambientales (Beerda et al., 1996). La recogida de la saliva es menos invasiva pero también se ve afectada por los ritmos circadianos, además de una posible contaminación de la sangre en la cavidad oral, dando niveles más elevados (Inder et al., 2012). En el caso de las heces, permite conocer la cantidad de cortisol en un lapso que oscila entre unas horas y más de un día (Möstl y Palme, 2002). En cambio, el pelo permite valorar el estado de estrés a largo plazo (Talló, 2016).

Otra posible alternativa para conocer si los animales padecen estrés es mediante la medición de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) la cual mide el equilibrio de la actividad del sistema nervioso autónomo, por lo que es un buen parámetro para evaluar el bienestar animal además de ser indicativo del estrés crónico. Para medir el VFR se necesita contar los movimientos torácicos durante un minuto (Plazas et al., 2018).

Los conejos para mantener constante su temperatura corporal producen calor utilizando sus reservas corporales y la oxidación de los alimentos consumidos. Este calor se disipa de dos formas, a través de la superficie corporal, calor sensible o a través de la evaporación en la respiración, conocido como calor latente. Las extremidades, cola y orejas regulan la temperatura corporal por vasodilatación cuando la temperatura ambiental es inferior a la del cuerpo. Para mantener constante su temperatura corporal aumentan o reducen la superficie corporal, encogiéndose si hace frío o estirándose si tienen calor, al igual que con la respiración regulan la producción de calor latente (Casanovas, 2018). La temperatura corporal de los animales es un indicador fisiológico que permite valorar su estado de salud y el nivel de estrés. La temperatura corporal ha sido medida tradicionalmente vía rectal mediante termómetro convencional, pero esta metodología, además del tiempo que requiere para su medición, es invasiva y podría afectar negativamente el bienestar de los animales (Chung et al., 2010; Jaén, 2022; Vicente-Pérez et al., 2019). Para solucionar estos inconvenientes se está estudiando el uso de la cámara de termografía infrarroja (TIR) para la medición de la temperatura. La TIR se utiliza para evaluar el bienestar y medir el estrés en los animales, es una herramienta fácil y adecuada de manejar para controlar los cambios de temperatura en los animales y proponen esta técnica como indicador fisiológico del estrés en especies de animales homeotermas (Bartolomé et al., 2013; Gjendal et al., 2018). La energía electromagnética se mide mediante una cámara de infrarrojos y detecta las diferentes frecuencias de onda emitidas por cada valor de temperatura (Stewart et al., 2005). Se obtiene una imagen conocida como fotografía termográfica, que representa la temperatura de la superficie estudiada. Cada región del animal que es captada por la cámara emite una radiación infrarroja diferente, que es interpretada como un color acorde a una banda de distintas tonalidades, asociadas a las variaciones de la temperatura. Las imágenes son posteriormente analizadas con ayuda de softwares específicos, obteniéndose las temperaturas superficiales de cada una de las partes anatómicas del animal que son objeto de estudio. Los estudios de De Lima et al. (2013), indican que las mejores áreas para realizar la TIR es en la zona ocular, seguido de oído interno y el oído externo, y finalmente la nariz.

En el conejo, la TIR ha sido utilizada para la medición de la temperatura corporal tras la exposición a situaciones de estrés agudo relacionadas con el manejo en gazapos de engorde (Jaén-Téllez et al., 2020) y en hembras (Agea et al., 2022). En cambio, no existen investigaciones en conejos machos, por lo que se ha considerado interesante acometer esta investigación.

1.4 Mejora genética en el conejo

En cunicultura, se están llevando a cabo programas de mejora genética desde hace más de cuatro décadas para incrementar la productividad en las explotaciones ganaderas. Hoy en día, todos los eslabones de la cadena de producción, desde el ganadero hasta el consumidor, están concienciados en producir de forma rentable un producto de calidad y con unos estándares de bienestar (Agea et al., 2020).

Un programa de mejora genética se basa en programas sistemáticos y estructurados destinados a modificar la composición genética de una población sobre la base de unos criterios productivos, esto es posible gracias a la variabilidad genética que existe dentro de una especie permitiendo que se seleccionen aquellos caracteres heredables y de interés para transmitirlos a la descendencia (Adib, 2020).

El principal objetivo de todo productor es el aumento de la rentabilidad de su explotación ganadera. Los objetivos de selección particularmente, son aquellos aspectos en los que queremos influir genéticamente para obtener una mayor ganancia con los animales, ya sea por aumento de productividad cualitativa y/o cuantitativa o por aumento de su eficiencia reproductiva (Masgoret y Calafé, n.d).

Para definir los objetivos y criterios de selección tenemos que identificar los factores que influyen positiva o negativamente sobre la rentabilidad de la empresa y, a partir de ahí, elegir aquellos sobre los cuáles podemos influir a través de la genética. También es importante definir qué variables se quieren mejorar según el tipo de explotación (Masgoret y Calafé, n.d).

1.4.1 Programas de mejora genética en la UMH

En granjas comerciales los principales ingresos provienen de las ventas de animales para matadero. Así pues, el objetivo principal de las granjas es producir el mayor número de conejos con el menor coste posible. Un factor importante en la producción de conejos y que aumenta la productividad es el tamaño de camada. Al aumentar el tamaño de camada los costes fijos, que son más importantes que en otras especies, se dividen por más individuos y por lo tanto los costes de conejo por kilo vendido bajan (Sahuquillo, 2017).

En la Universidad Miguel Hernández de Elche se está llevando a cabo con éxito un experimento de selección divergente por variabilidad del tamaño de camada en conejos. Esta selección ha conducido a la obtención de una línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada (línea Low) y otra línea seleccionada para aumentar dicha variabilidad (línea High) (Argente et al., 2019). También se ha encontrado que la línea Low es más resistente a enfermedades y al estrés, por lo que tiene un mayor bienestar animal, por tanto es más resiliente que la línea High (Argente et al., 2019; García et al., 2012). Además, la productividad de la línea Low es superior a la de la línea High debido a que al disminuir la variabilidad conduce a un incremento en el tamaño de camada; concretamente, la línea Low presenta casi un gazapo más al parto que la línea High (Blasco et al., 2017).

La línea Low tiene interés para los productores de carne de conejo pues es más productiva, por lo que puede ser utilizada como una de las líneas maternas en la obtención de la hembra híbrida del cruce a tres vías. Se sabe que el tamaño de camada depende de la tasa de ovulación y de las supervivencias embrionarias y fetales en las hembras reproductoras (Argente et al., 1999). Pero no se conoce si el macho influye en el tamaño de camada, por lo que es interesante conocer si influye debido a que evaluar las características del semen proporciona información sobre su capacidad fecundante (Brun et al., 2002), ya que las características seminales se ven afectadas por factores genéticos, de alimentación, estado de salud, condición de cría, estación y frecuencia de recogida (Alvariño, 2000).

2. OBJETIVOS

El primer objetivo ha consistido en analizar la variación de temperatura corporal en el macho del conejo tras un procedimiento rutinario de estrés agudo como la extracción espermática.

El segundo objetivo de este trabajo es estudiar la respuesta correlacionada en la respuesta al estrés mediante la temperatura corporal medida con termografía de infrarrojo y la espermática de dos líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada

3. MATERIALES 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.

3.1 Material animal

Para el análisis de la calidad seminal, se analizaron 136 muestras de semen procedentes de 34 conejos jóvenes entre los 4.5 y 6 meses de edad. Los machos pertenecen a la 17 generación de selección de un experimento divergente por variabilidad ambiental en tamaño de camada (Blasco et al., 2017). El peso medio durante el desarrollo experimental fue de 3,09 Kg. De los 34 conejos, la mitad pertenecían a la Línea Low, seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada y la otra mitad pertenecían a la Línea High, seleccionada para aumentar el tamaño de camada. En el caso de la TIR, se utilizaron 20 animales (50% de cada línea) con una franja de edad y peso medio similar a la descrita anteriormente.

La investigación duró 6 semanas y los animales fueron alojados en la Explotación Cunicola de la Escuela Politécnica de Orihuela, ubicada en Desamparados (Orihuela). Los animales se ubicaron en jaulas individuales con comedero común y bebedero automático individual, se les administró un pienso comercial y el acceso a la alimentación y el agua fue ad libitum. El ambiente fue controlado con un fotoperiodo de 16L:8D. Las temperaturas en el interior de la nave durante estos dos meses oscilaron entre los 11 y 17 °C y la humedad relativa entre el 46 y el 98%.

3.2 Diseño experimental

El estudio se realizó cada 7 días y las mediciones se llevaron a cabo en 15 momentos distribuidos a lo largo de 90 minutos (0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 35, 40, 50, 60, 70, 90 minutos) en cada región anatómica. Durante la toma de muestras los conejos fueron sujetos durante aproximadamente 1 minuto. La extracción espermática se realizó en dos ocasiones: la primera tuvo lugar tras medir la temperatura basal en el minuto 0 y la segunda después del minuto 30.

Se midió la emisividad de la temperatura corporal mediante la TIR en el globo ocular, la nariz y en el pabellón auricular. Las imágenes fueron obtenidas mediante una cámara termográfica ®FLIR SC660 y se procesaron con el software ®ThermaCAM Researcher Pro 2.10 para obtener el registro de temperatura (Figura 4). La cámara fue calibrada según la temperatura, la humedad relativa, la emisividad y la distancia con respecto al sujeto.

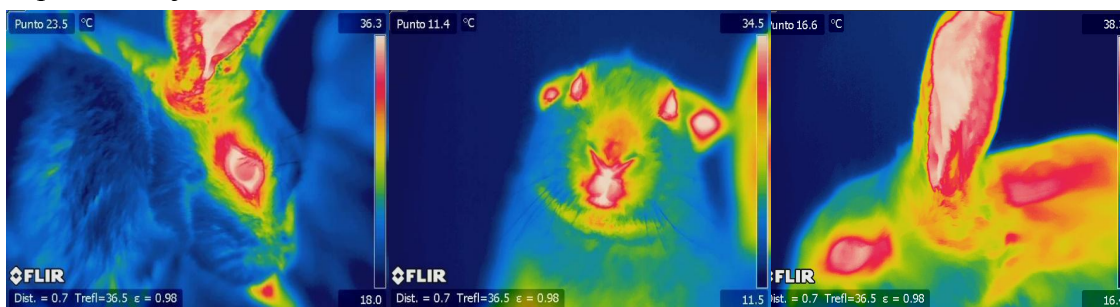


Figura 4. Imágenes del globo ocular, nariz y pabellón auricular tomadas con la cámara termográfica ®FLIR SC660.

La extracción se realizó a través de una vagina artificial de silicona, previamente calentada. Tras cada extracción se analizó la presencia o ausencia de gel, y se midió el volumen comparándolo con un tubo de ensayo medidor. La muestra se diluyó 1/1 con un medio tris-cítrico-glucosa y se midió la motilidad a través de una pequeña muestra de semen disuelto que se deposita en un porta y un cubre, a continuación se observaba bajo microscopio con una lente de 40x en una escala del 0 (siendo el valor más bajo) al 5 (siendo el valor más alto). Por último, se analizó el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos con una tinción de eosina/negrosina sobre una muestra de 100 espermatozoides, donde se observaban el número de espermatozoides muertos, en este caso eran los teñidos de color morado.

Posteriormente, las dos extracciones de un mismo macho se mezclaban y se realizó una dilución 1:9 con glutaraldehído al 0,2%. A continuación, se analizó la concentración de espermatozoides con una cámara Bürker, se calculó la producción total de espermatozoides, y sobre una muestra de 100 espermatozoides se contabilizaba el porcentaje de espermatozoides normales, con gota, anormales de cola, anormales de cabeza, de pieza intermedia y acrosoma reaccionado.

3.3 Modelo estadístico

El modelo para analizar la evolución de la temperatura del globo ocular, nasal y del pabellón auditivo después de estímulos estresantes incluyó los efectos de semana (6 niveles), momento (15 niveles; minuto 0 (basal), 1, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 35, 40, 50, 60, 70, 90), línea (2 niveles; línea Low y línea High), el efecto aleatorio del macho y el peso del macho como covariable.

Para estimar la respuesta correlacionada a la selección por variabilidad ambiental del tamaño de camada sobre la temperatura del globo ocular, nasal y del pabellón auditivo se utilizó un modelo estadístico que incluyó el peso del macho como covariable y los efectos de semana (6 niveles), línea-momento (30 niveles; minuto 0 (basal), 1, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 35, 40, 50, 60, 70, 90 para la línea Low y los mismos momentos para la línea High), el efecto aleatorio del macho y el error.

Para estimar la respuesta correlacionada por variabilidad ambiental del tamaño de camada sobre los parámetros de calidad espermática, el modelo estadístico incluyó las covariables del peso y edad, los efectos de línea (dos niveles, Low y High), semana (6 niveles, excepto porcentaje de vivos y muertos a 5 niveles), gel (2 niveles, presencia y ausencia), animal como efecto aleatorio y el error. El volumen, la motilidad y el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos además se incluyó el efecto de orden de recogida (2 niveles, primera o segunda).

Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. Se utilizaron priores uniformes acotados para todos los efectos sistemáticos, con la excepción del efecto

de macho que se distribuyó de forma normal con media 0 y varianza $I\sigma_m^2$. Los efectos de macho y de residuo se consideraron independientes. Los residuos se distribuyeron de forma normal con media 0 y varianza $I\sigma_m^2$. Los priores de las varianzas fueron también planos acotados. Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros de interés se estimaron por muestreo de Gibbs. Para todos los análisis se utilizó el programa Rabbit desarrollado por el Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (Valencia, España). Después de algunos análisis exploratorios, se tomó una cadena de 60.000 iteraciones con un periodo de quemado de 10.000 iteraciones y solo una muestra de cada 10 se salvó. La convergencia se testó usando el criterio Z de Geweke y los errores de Monte Carlo se obtuvieron usando el procedimiento de series temporales.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del estrés por termografía de infrarrojo

La figura 5 muestra la evolución de la temperatura de globo ocular en machos de conejo después de la aplicación de un estímulo estresante como es la extracción de muestras de semen. La temperatura basal fue de $36,20 \pm 0,15^\circ\text{C}$. Tras la primera y segunda extracción espermática se observó un aumento brusco de temperatura, siendo la probabilidad (P) de que la diferencia entre estos momentos sea menor de 0 de 99%. En el minuto 1 tras el primer estímulo estresante, la temperatura alcanzó los $36,49 \pm 0,15^\circ\text{C}$, correspondiéndose con la temperatura máxima observada en esta región anatómica. En el minuto 31 tras el segundo estímulo estresante, la temperatura alcanzó los $36,31 \pm 0,15^\circ\text{C}$. Este efecto coincide con el aumento de temperatura corporal que tiene lugar por una mayor presencia glóbulos rojos en el torrente sanguíneo debido a la acción indirecta de la liberación de adrenalina y noradrenalina (catecolaminas) por parte de la médula adrenal, ante la presencia de un estímulo estresante (Axelrod y Reisine, 1984; Cunningham, 1999).

En el caso de la segunda extracción, el aumento de temperatura se sostuvo hasta el minuto 35 ($36,46 \pm 0,15^\circ\text{C}$), aunque no se observó una diferencia relevante con respecto al minuto 31 (P = 70%). Este resultado concuerda con el brusco incremento de la temperatura a los 5 minutos después de un estímulo estresante producido por la monta, en las hembras de la línea seleccionada por homogeneidad en tamaño de camada encontrado por Agea et al. (2022).

Entre el minuto 1 y 5 ($36,13 \pm 0,15^\circ\text{C}$) se produjo un descenso brusco de temperatura (P = 99%). Este suceso puede deberse a que las catecolaminas tienen una vida media en el torrente sanguíneo de unos pocos minutos (Peaston y Weinkove, 2004). Además, a partir del minuto se produce un aumento progresivo de corticosterona (Gascón y Arribas, 1987) dando lugar a un descenso de la temperatura.

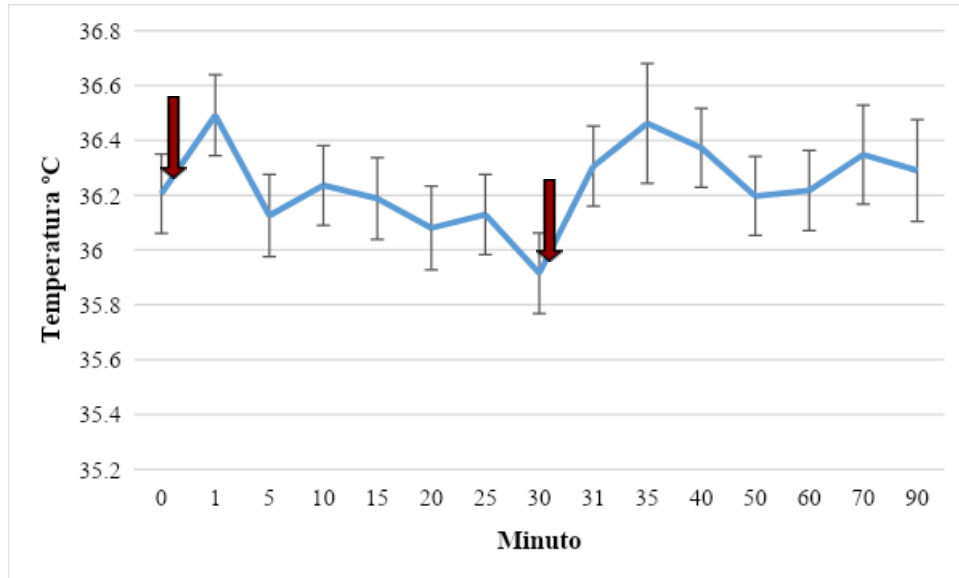


Figura 5. Evolución de la temperatura del globo ocular.

Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar. Las flechas indican el momento de la extracción.

Finalmente, en el minuto 50 ($36,20 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$) se produjo un descenso de la temperatura ($P = 91\%$) hasta valores similares a los de la temperatura basal. Mientras que tras la primera extracción la estabilización frente al estímulo de estrés agudo se produjo rápidamente, en la segunda se prolongó hasta los 20 minutos. Esta evolución podría indicar que la fase de estrés agudo tras un segundo estímulo estresante se prolonga cuando tiene lugar en un periodo de tiempo reducido.

En la nariz, la temperatura basal fue de $32,85 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$ (Figura 6). En consonancia con lo descrito anteriormente, en el minuto 1 se produjo un aumento brusco de temperatura ($34,20 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$; $P = 100\%$). Sin embargo, en la presente región anatómica se observó un nuevo ascenso relevante en el minuto 20 ($34,86 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$) con respecto al minuto 1 ($P = 98\%$). En el minuto 30, al igual que en el globo ocular, tuvo lugar un marcado descenso de la temperatura ($34,17 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$, $P = 98\%$), para posteriormente volver a ascender en el minuto 31 ($34,95 \pm 0,27$; $P = 99\%$), tras haber realizado la segunda extracción espermática. Por último, de forma similar a lo observado anteriormente, el descenso de la temperatura se localizó en el minuto 50 ($34,43 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$; $P = 94\%$).

En términos generales se observa un patrón similar al descrito en el globo ocular. Sin embargo, la menor temperatura registrada, así como la diferencia descrita en el primer periodo tras la primera extracción, podría deberse, tal y como señalaron (Luzi et al., 2007), a la influencia que ejerce la temperatura ambiente sobre la TIR en la región nasal.

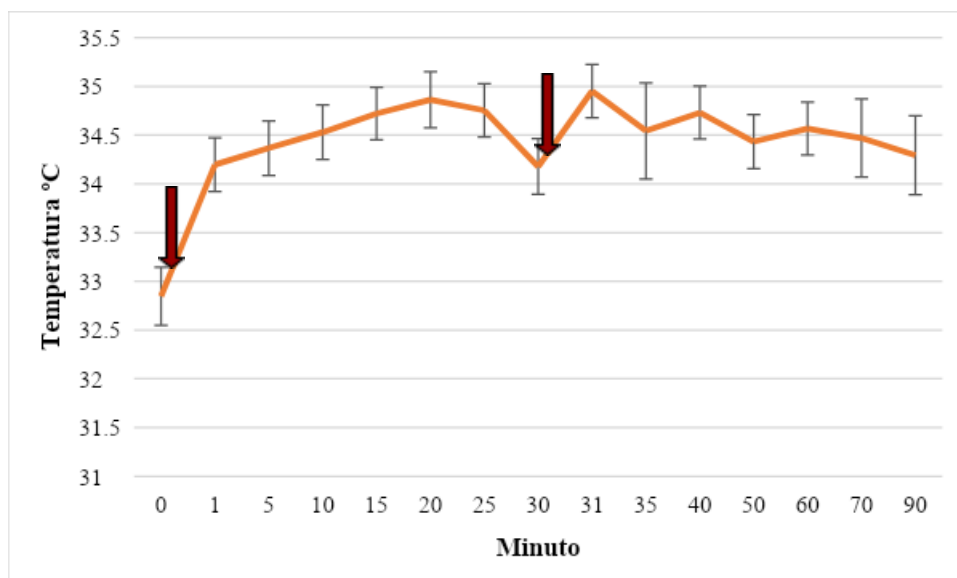


Figura 6. Evolución de la temperatura nasal.

Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar. Las flechas indican el momento de la extracción.

En el pabellón auricular, la temperatura basal fue de $33,04 \pm 0,50^{\circ}\text{C}$ (Figura 7). Tras el primer estímulo estresante la temperatura aumentó con una tendencia mayor hasta el minuto 20 ($37,14 \pm 0,48^{\circ}\text{C}$; $P = 100\%$), a partir de este minuto la temperatura se mantuvo con tendencia descendente hasta el minuto 30 ($36,77 \pm 0,47^{\circ}\text{C}$; $P = 94\%$). Tras la segunda extracción la temperatura subió de forma gradual hasta el minuto 40 ($37,37 \pm 0,47^{\circ}\text{C}$; $P = 89\%$). Finalmente, la temperatura se mantuvo descendiendo desde el minuto 50 ($37,12 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$; $P = 93\%$).

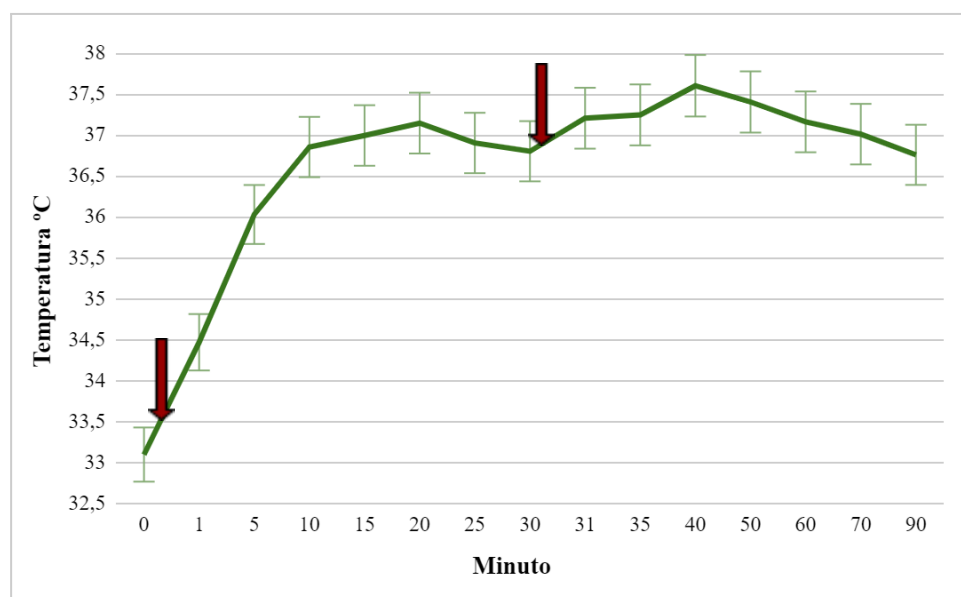


Figura 7. Evolución de la temperatura del pabellón auricular.

Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar.

Al igual que ha ocurrido en el globo ocular y en la nariz tras el estímulo se ha producido una subida de la temperatura, pero la diferencia del pabellón auricular es que la subida ha sido de forma más constante hasta alcanzar la máxima temperatura tras cada extracción, sin producirse desviaciones importantes entre cada medición.

4.2 Respuestas correlacionadas a la selección divergente por variabilidad del tamaño de camada.

4.2.1 Caracteres relacionados con el estrés

Las diferencias de temperatura del globo ocular entre la Línea Low y la Línea High se presentan en la Figura 8. Los machos de ambas líneas tienen una temperatura basal en el globo ocular de $36,20 \pm 0,32^{\circ}\text{C}$ ($P = 54\%$). Tras la primera extracción hay un aumento relevante de la temperatura pero con valores similares entre ambas líneas ($P = 55\%$). La temperatura del globo ocular se mantiene más o menos constante hasta el minuto 30, donde se produce un descenso de la temperatura en ambas líneas (Línea Low: $36,02 \pm 0,21^{\circ}\text{C}$; Línea High: $35,80 \pm 0,23^{\circ}\text{C}$; $P = 78\%$). Tras la segunda extracción hay un aumento de la temperatura, alcanzando el máximo la línea Low en el minuto 35 ($36,65 \pm 0,32$), en cambio línea High alcanza el máximo en el minuto 40 ($36,46 \pm 0,32$). En el minuto 70 se puede observar que la línea Low tiene una subida de temperatura ($36,47 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$) mientras que la línea High se mantiene constante ($36,14 \pm 0,31$) con respecto a los momentos anteriores ($P = 79\%$).

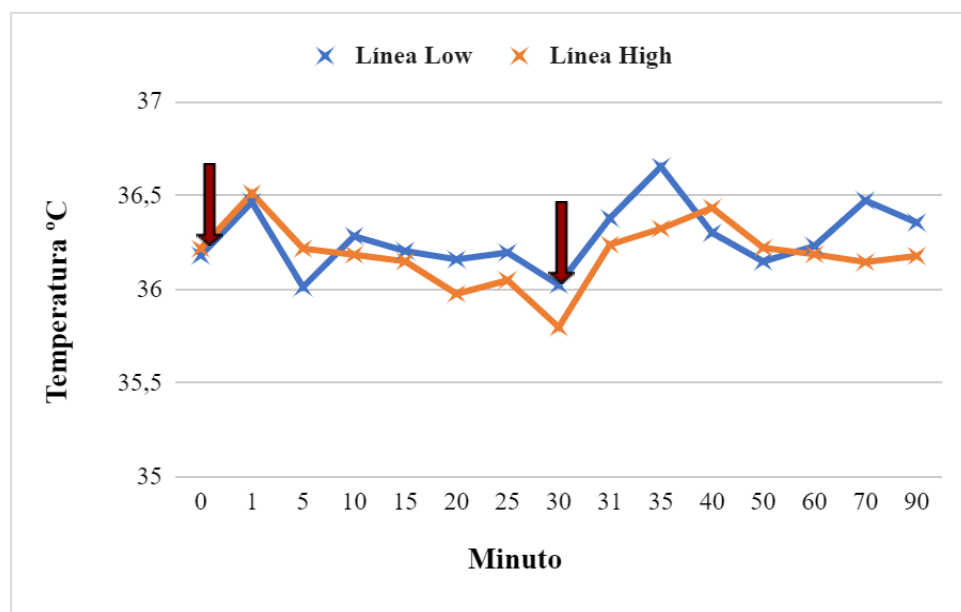


Figura 8. Diferencias de la evolución de la temperatura del globo ocular entre la Línea Low y Línea High.
Las flechas indican el momento de la extracción.

Si comparamos los valores de la temperatura del globo ocular en el estudio realizado por Agea et al. (2022) en hembras de las mismas líneas, se puede concluir que el efecto es inverso en los machos, en caso de las hembras de la línea High alcanzan el valor máximo de temperatura, mientras que en nuestro caso los machos de la línea Low marcan el pico más alto de temperatura.

En la nariz, existe una cierta tendencia ($P = 79\%$) de respuesta correlacionada en la temperatura basal entre las líneas Low y High, teniendo la línea Low una temperatura basal ($32,58 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$) inferior a la de la línea High ($33,10 \pm 0,45^{\circ}\text{C}$; Figura 9). En cambio, tras la primera extracción la temperatura se ha igualado en ambas líneas ($34,20 \pm 0,40^{\circ}\text{C}$; $P = 58\%$). En el minuto 15 existe una cierta tendencia ($P = 84\%$), siendo mayor en la línea Low ($35,04 \pm 0,41^{\circ}\text{C}$). En el resto de los momentos ambas líneas presentan la misma temperatura. Destacar que tras la segunda extracción la subida de la nasal ha sido más inmediata que la temperatura del globo ocular.

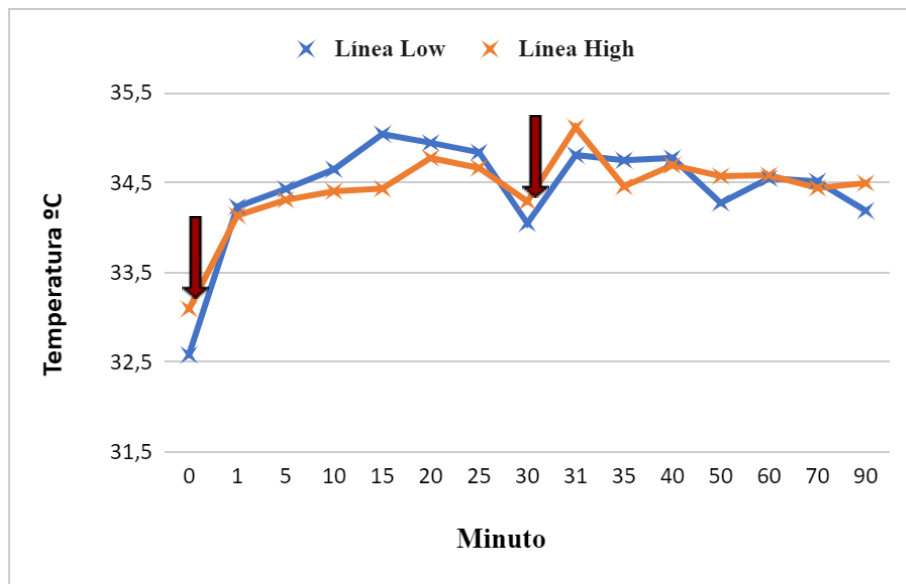


Figura 9. Diferencias de la evolución de la temperatura nasal entre la Línea Low y Línea High.

Las flechas indican el momento de la extracción.

En el pabellón auricular, existe una respuesta correlacionada en la temperatura basal ($P = 99\%$) siendo bastante inferior en la línea Low ($31,54 \pm 0,70^{\circ}\text{C}$) con respecto a la línea High ($34,54 \pm 0,78^{\circ}\text{C}$; Figura 10). Tras la primera extracción, los minutos 1 y 5, ambas líneas coinciden en las mismas temperaturas del pabellón auricular (minuto 1: $34,43 \pm 0,70^{\circ}\text{C}$; $P = 58\%$ // minuto 5: $35,96 \pm 0,70^{\circ}\text{C}$; $P = 55\%$). En cambio, al alcanzar el minuto 10, se produce un aumento de temperatura del pabellón auricular ($P = 86\%$) en la línea Low ($37,73 \pm 0,67^{\circ}\text{C}$) mientras que la línea High la tendencia de subida de la temperatura no es tan elevada ($36,26 \pm 0,74^{\circ}\text{C}$).

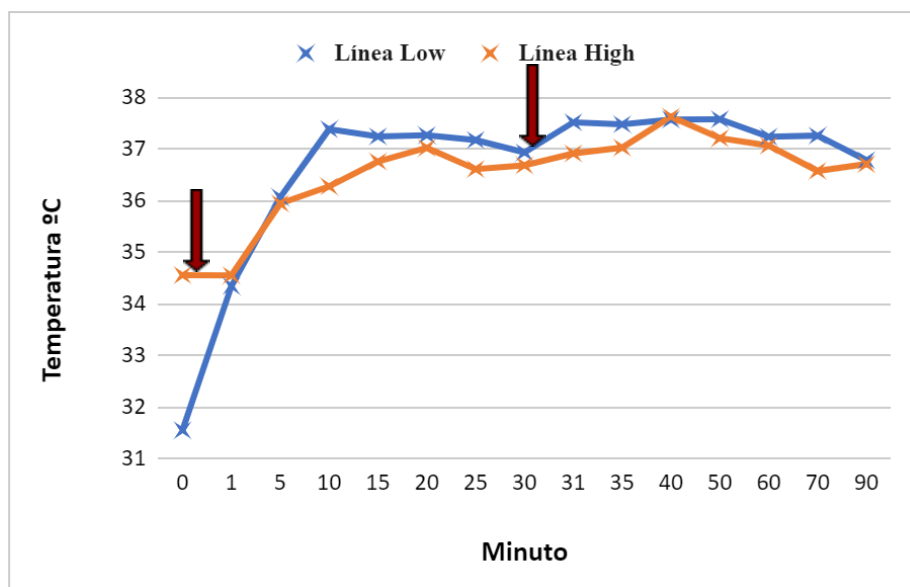


Figura 10. Diferencias de la evolución de la temperatura del pabellón auricular entre la Línea Low y Línea High.
Las flechas indican el momento de la extracción.

Se puede destacar que según van transcurriendo el tiempo tras el estímulo estresante, la línea Low tiene una temperatura superior que en la línea High (Figura 10), las diferencias no son indicativas de una respuesta correlacionada, pero puede indicar que la línea Low tiene una temperatura superior tras un estímulo de estrés. Tras la segunda extracción no se produce una elevación de la temperatura del pabellón auricular como ocurre en la temperatura del globo ocular (Figura 8) o la temperatura nasal (Figura 9), sino que la tendencia de la temperatura tras el segundo estímulo de estrés es el mantenimiento de la temperatura.

4.2.1 Calidad espermática

La tabla 1 muestra las diferencias en volumen, presencia de gel, motilidad, concentración y producción total entre las líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada. Ambas líneas presentaron valores similares para estos caracteres. Por tanto, no se ha producido una respuesta correlacionada a la selección para estos caracteres. Los valores obtenidos para el volumen fueron superiores a los observados por Fouda et al. (2022) para la línea APRI con el mismo fotoperiodo. También la motilidad presentó valores superiores en estudios anteriores de estas mismas líneas (Díaz et al., 2021). La concentración y producción total de espermatozoides es muy inferior a los encontrados para machos adultos de la línea materna V criada en Alejandría (El-Gindy, 2021). Estas diferencias podrían ser debidos a la diferente edad de los machos utilizados en los estudios. García et al. (2004) observaron que las características seminales mejoran con la edad, siendo la edad de máxima producción entre los 10-18 meses de edad.

Tabla 1. Diferencias de las características del semen (I) entre las líneas Low y High.

	Línea		D	HPD _{95%}	P (%)
	Low	High			
Volumen (ml)	0,85	0,84	0,01	-0,12;0,13	56
Gel	0,40	0,36	0,04	-0,22;0,28	64
Motilidad	4,50	4,68	-0,18	-0,52;0,15	86
Concentración (10 ⁶ /ml)	21,88	24,98	-3,10	-13,85;8,16	70
Producción total (10 ⁶)	66,36	73,38	-7,02	-49,81;31,71	64

D: diferencia entre las líneas Low y High. HPD_{95%}: región de alta densidad al 95%. P: probabilidad de que la diferencia sea > 0 cuando D > 0, o sea < 0 cuando D < 0.

El porcentaje de espermatozoides normales fue alto y similar en ambas líneas (85%; P = 63%, Tabla 2). Tampoco se ha producido una respuesta correlacionada en otros parámetros como el porcentaje de gota citoplasmática (alrededor de un 8%; P = 69%), el porcentaje de anormales de cola (alrededor del 12,5%; P = 72%), y el porcentaje de anormales de pieza intermedia y de acrosoma reaccionado (P = 77%). Los valores de gota citoplasmática son superiores a los encontrados para estas mismas líneas por Díaz et al. (2021). Este resultado está justificado por la edad de los machos de este trabajo que acaban de empezar su vida productiva, lo que lleva asociado un mayor porcentaje de gota citoplasmática como un síntoma de inmadurez del macho. La calidad espermática es alta comparada con los resultados de El-Ratel et al. (2022) que obtuvo un mayor porcentaje de espermatozoides anormales tanto de cabeza como de cola, esto puede ser debido a las condiciones ambientales de la zona de estudio, en este caso Egipto, donde las temperaturas que alcanzaron fueron de 32°C. Además, la capacidad fecundante de los espermatozoides podría ser elevada, dado el bajo porcentaje de espermatozoides con el acrosoma reaccionado, similares a machos adultos de estas mismas líneas (Díaz et al., 2021).

La viabilidad de los espermatozoides es superior en la línea Low (88,77% de espermatozoides vivos) que en la línea High (79,55 % de espermatozoides vivos; P = 95%). Los valores obtenidos son superiores a los mostrados por Adeyemi et al. (2020) con la misma metodología de tinción.

Tabla 2. Diferencias de las características del semen (II) entre las líneas Low y High.

Espermatozoides	Línea		D	HPD _{95%}	P (%)
	Low	High			
Normales (%)	85,70	85,09	0,57	-2,61;4,77	63
Gota (%)	8,94	8,06	0,88	-2,71;4,69	69
Anormales Cola (%)	12,21	13,18	-1,06	-4,52;2,39	72
Anormales Cabeza (%)	1,07	0,99	0,05	-0,42;0,54	58
Anormales Pieza intermedia (%)	0,92	0,72	0,20	-0,34;0,76	77
Acrosoma reaccionado (%)	2,37	2,62	-0,25	-0,96;0,49	77
Vivos (%)	88,77	79,55	9,22	-1,29;20,99	95
Muertos (%)	11,21	20,26	-9,05	-19,51;2,68	95

D: diferencia entre las líneas Low y High. HPD_{95%}: región de alta densidad al 95%. P: probabilidad de que la diferencia sea > 0 cuando D > 0, o sea < 0 cuando D < 0.

5. CONCLUSIÓN

En conclusión, tanto la TIR realizada sobre el globo ocular, la nariz y el pabellón auricular se muestra como herramienta adecuada para la valoración de los cambios de temperatura promovidos por la exposición a un estímulo de estrés agudo. Asimismo, las regiones anatómicas fueron localizaciones propicias para realizar la valoración.

La comparación de las temperaturas en el globo ocular, nariz y pabellón auricular entre la línea Low y la línea High nos ha permitido saber cuál de las dos líneas ha tenido una mayor capacidad de respuesta fisiológica frente al estrés. Ninguna temperatura alcanzada por ninguna de las líneas es patológica, es decir, ambas se encuentran dentro de los parámetros homeostáticos. Por tanto, la línea Low ha tenido un comportamiento más acorde tras el estímulo, mientras que la línea High, aunque la diferencia de los valores no sea destacable, no ha reaccionado a los cambios del medio.

La selección por variabilidad del tamaño de camada parece que no ha producido una respuesta correlacionada sobre la calidad del semen en machos que inician su vida productiva, a excepción de la viabilidad que es superior en la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada. Sin embargo, son necesarios más estudios que amplíen la edad de los machos y estudien la relación entre la calidad del espermatozoide con la fertilidad.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Adeyemi AA, Ibrahim OW, Ajayi OO, Ayeni ST. (2020). Semen indices, growth response and sperm reserve of male rabbits fed zinc supplemented diets. *World Rabbit Sci* 28: 199-206.
- Adib, O. (2020). Programas de mejora genética. Concepto, Generalidades. Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba.
- Agea I, García ML, Argente MJ, Blasco A. (2020). Selección por variabilidad del tamaño de camada: una metodología indirecta para mejorar el bienestar de la coneja. *Boletín de cunicultura* 192: 29-31.
- Agea I, Hadjadj I, García ML, Argente MJ. (2022). Selección por variabilidad ambiental del tamaño de camada. II: Emisividad de la temperatura corporal. En: 46th Symposium de Cunicultura: Asociación Española de Cunicultura. Barcelona, España, pp. 27-31.
- Alvariño JMR. (2000). Reproductive performance of male rabbits. En: 7th World Rabbit Congress. Valencia, España, pp. 13-36.
- 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(10): 2348-2355.
- Argente MJ, Santacreu MA, Climent A, Blasco A. (1999). Phenotypic and genetic parameters of birth weight and weaning weight of rabbits born from unilaterally ovariectomized and intact does. *Livestock Production Science*. 57, 159–167.
- Axelrod J, Reisine TD. (1984). Stress hormones: their interaction and regulation. *Science* 224(4648): 452-459.
- Bartolomé E, Sánchez MJ, Molina A, Schaefer AL, Cervantes L, Valera M. (2013). Using eye temperature and heart rate for stress assessment in young horse competing in jumping competitions and its possible influence on sport performance. *Animal*. 7, 2044-2053
- Beerda B, Schilder MB, Janssen NS, Mol JA. (1996). The use of saliva cortisol, urinary cortisol and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Harmones and Behavior*. 30 272-279
- Blasco A, Martínez-Álvaro M, García ML, Ibáñez-Escriche N, Argente MJ. (2017). Selección por sensibilidad ambiental genética del tamaño de camada en conejos. *Genetics Selection Evolution*, 49 pp. 48-55.
- Broom DM. (2011). Animal welfare: concepts, study methods and indicators. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 24(3): 306-321.
- 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.
- Cano A. (2014). La naturaleza del estrés. Universidad Complutense de Madrid.
- Casanovas TR. (2018). El aislamiento térmico y la adecuación de las instalaciones en cunicultura. *Boletín de cunicultura*. (187), 36-39.

- Castellini C, Mourvaki E, Dal Bosco A, Galli E. (2007). Vitamin E Biochemistry and Function: A Case Study in Male Rabbit. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(3): 248-56.
- Chen PH, White CE. (2006). Comparison of rectal, microchip transponder, and infrared thermometry techniques for obtaining body temperature in the laboratory rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 1: 57-63
- Chung T, Jung W, Nam E, Kim J, Park S, Hwang CY. (2010). Comparison of rectal and infrared thermometry for obtaining body temperature of gnotobiotic piglets in conventional portable germ-free facility. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23: 1364-1368
- Contera C. (1988). Fisiología del aparato reproductor y ritmos reproductivos en cunicultura. *Boletín de Cunicultura*, 43.
- Cook NJ. (2012). Minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals. *Canadian Journal of Animal Science*,. 92, 227-259
- Cunningham J. (1999). Fisiología veterinaria. Interamericana, Ciudad de Mexico, Mexico.
- De Camargo B. (2010). Estrés, Síndrome General de Adaptación o Reacción General de Alarma. *Revista Médico Científico*,17.
- De Lima V, Piles M, Rafel O, Lopez-Bejar M, Ramon J, Velarde A, Dalmau A. (2013). Use of infrared thermography to assess the influence of high environmental temperature on rabbits. *Research in Veterinary Science*. 95:802-810.
- Díaz JV, Argente MJ, García ML. (2021). Effect of postbiotic based on lactic acid bacteria on semen quality and health of male rabbits. *Animals* 11: 1007.
- El-Gindy YM. (2021). Improvement in quality and storage ability of rabbit semen by using black or thyme seed as dietary supplementation. *J Anim Physiol Anim Nutr* 106: 642-654.
- El-Ratel I, El-Moghazy M, El-Gaml A, El-Naser IA. (2022). Effects of propolis ethanolic extract administration on quality of fresh and cryopreserved semen, redox status, and sperm flow cytometry parameters of heat-stressed rabbit bucks. *Adv Anim Vet Sci* 10(12): 2578-2588.
- Fouda SF, El-Raghi AA, Abdel-Khalek E, Hassan MA, El-Ratel IT. (2022). Impact of lighting regimes on reproductive performance and sperm ultrastructure in rabbit bucks under very severe heat stress conditions. *Livest Sci* 255:104780.
- García ML, Andrés I, Caselles P, Lavara R. (2004). Estudio de la edad de los machos de conejo en la inseminación artificial. *Boletín de Cunicultura* 132: 17-25.
- García ML, Argente MJ, Muelas R, Birlanga V, Blasco A. (2012). Effect of divergent selection for residual variance of litter size on health status and welfare. *World Rabbit Science*. 103-106.
- García P, Rodríguez, JM. (2002). Evolución del manejo reproductivo en Cunicultura. *Boletín de Cunicultura*, 124.
- Gascón FM, Arribas MTV. (1987). Efecto estresante de la manipulación en el conejo En: 12th Symposium de Cunicultura: Asociación Española de Cunicultura. Guadalajara, España, pp. 125-132.

- Giusti M, Cordiviola CA, Arauz S, Rule R. (2011). Reseña sobre producción de conejos. Introducción a la Producción Animal, Fac. de Cs. Agrarias y Forestales, UNLP. 2 Laboratorio Central, Fac. de Cs. Veterinarias, UNLP. 1, 3 CIC PBA.
- Gjendal K, Franco NH, Ottesen JL, Sorensen DB, Olsson I. (2018). Eye, body or tail? Thermography as a measure of stress in mice. *Physiology & Behavior*. 196,135-143
- Inder WJ, Dimeski G, Russell A. (2012). Measurement of salivary cortisol in 2012. *Clinical Endocrinology*. 77 645-651
- Jaén JA. (2022). Etología y bienestar animal en la especie cunícola: Termografía aplicada a la valoración de estrés en conejo. Tesis Doctoral. Departamento de Agronomía escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica Universidad de Sevilla.
- Jaén-Téllez JA, Sánchez-Guerrero MJ, López-Campos JI, Valera M, González-Redondo P. (2020). Acute stress assessment using infrared thermography in fattening rabbits reacting to handling under winter and summer conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* 18(2): e0502-e0502.
- Kataoka N, Hioki H, Kaneko T, Nakamura K. (2014). Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia. *Cell Metab*. 20: 346-358
- Kanaroglou H, Akumal T. (2013). Animal welfare: An animal science approach. *Meat Science*. 95, 821-827
- Kowalska D, Gugolek A, Bielanski P. (2011). Effect of stress on rabbit meat quality. *Ann Anim Sci* 11(3): 465-475.
- Lebas F, Coudert P, Rouvier R, de Rochambeau H. (1986). La cunicultura, sanidad y producción. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/3/x5082e/X5082E00.htm>
- Luthar SS, Cicchetti D, Becker B. (2000). The construct of resilience: A critical evaluation and guidelines for future work. *Child Dev* 71(3), 543-562.
- Luzi F, Ludwig N, Monzani M, Gargano M, Ricci C, Redaelli V, Verga M. (2007). Procedures for analyses of sequence of thermal images in welfare study of rabbit. En: 4th. International Workshop on the Assessment of Animal Welfare at Farm and Group Level (WAFL). Ghent, Bélgica, pp. 10-13.
- Masgoret S, Calafé M. (n.d.). Mejoramiento genético: ¿Por dónde empezar? La Asociación Argentina Criadores de Hereford. <https://www.hereford.org.ar/web/wp-content/uploads/Mejoramiento-Gen%C3%A9tico-por-d%C3%B3nde-empezar.pdf>
- Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). Órganos animales: Reproductor. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA). (2022). El sector cunícola en cifras. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/indicadores-economicos-cunicultura/indicadores-economicos-cunicultura-ok_tcm30-627054.pdf

- Mormède P, Andanson S, Aupérin B, Beerda B, Guémené D, Malmkvist J. (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior*. 92 317-339.
- Möstl E, Palme R. (2002). Hormones as indicators of stress. *Domest. Anim. Endocrin.*, 23:67-74.
- Nizza A, Di Meo C, Taranto S. (2003). Effect of collection rhythms and season on rabbit semen production. *Reproduction in Domestic Animals*, 38: 436-439.
- Nogareda S. (1994). Fisiología del estrés. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. *Notas Técnicas de Prevención. Serie 10ª*, 355.
- Ogunjimi L, Ogunwande G, Osunade J. (2008). Influence of building environment on rabbit weight gain, feed efficiency, rectal temperature and respiration rate in the humid tropical climate of Southwestern Nigeria. *Agric. Eng. Int. CIGR J. X*: 1-14.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2021). Cultivos y productos de ganadería. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>.
- Palumbo M, Domínguez C, Hongxin D. (2020). Sex differences in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation after chronic unpredictable stress. *National Library of Medicine*, 10.1002/ brb3.1586.
- Parsons P. (1988). Behavioral, stress and variability. *Behav. Genet.* 18: 293-308
- Pascual JJ, García C, Martínez E, Mocé E, Vicente JS. (2004). Rearing management of rabbit males selected by high growth rate: the effect of diet and season on semen characteristics. *Reproduction Nutrition Development*, 44.
- Peaston RT Weinkove C. (2004). Measurement of catecholamines and their metabolites. *Ann Clin Biochem* 41(1): 17-38.
- Plazas R, Hernández F, Piso D, Rubio M, Sierra L, DiGiacinto A. (2018). Requirements for the measurements of invasive and non-invasive stress indicators in animal production. *Revista de Investigación Veterinarias del Perú.* 9, 15-30.
- Sahuquillo J. (2017). Gestión de la línea V n varios núcleos de conejos de selección. Trabajo Fin de Grado. Universidad Politècnica de València. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/88637/Sahuquillo%20-%20Gesti%C3%B3n%20de%20la%20l%C3%ADnea%20V%20en%20varios%20n%C3%ACleos%20de%20selecci%C3%B3n%20de%20conejos..pdf?sequence=1>
- Stewart M, Webster JR, Schaefer AL, Cook NJ, Scott SL. (2005). Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Animal Welfare.* 14,319-325
- Talló O. (2016). Hair cortisol in cattle as a measure of long-term adrenal activity. *Universitat Autònoma de Barcelona.*
- Theau-Clément M, Esperbié J, Boleta G. (1995). Effects of artificial photoperiods on sexual behaviour and sperm output in the rabbit. *Animal Science*, 60:143-149.
- Trocino A, Xiccato G. (2006). Animal welfare in reared rabbits: a review with emphasis on housing systems. *World Rabbit Sci.* 14: 77-93
- Vicente JS, Lavara R, Viudes de Castro MP, Marco-Jiménez F. (2014). Técnicas y manejo reproductivo del conejo. *Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria*, 216: 47-61.
- Vicente-Pérez R, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, Correa-Calderón A, Luna-Palomera C, Chay-Canul AJ. (2019). Relación de temperatura rectal y frecuencia respiratoria

- con temperaturas de pelo obtenidas por termografía en ovejas gestantes estresadas por calor. ITEA-Inf. Tec. Econ. Ag. 115: 219-230
- Von der Ohe C, Servheen C. (2002). Measuring stress in mammal using fecal glucocorticoids: Opportunities and challenges. Wildl. Soc. Bull. 30: 1215-1225
- Wingfield JC, Hunt K, Breuner C, Dunlap K, Fowler G S, Freed L, Lepson J. (1997). Environmental stress, field endocrinology, and conservation biology. En Behavioral approaches to conservation in the wild. Buchholz JR, Clemmons R (Ed.). Cambridge University Press, Cambridge, UK, 95-131.
- Yousef MI. (2005). Reproductive performance, blood testosterone, lipid peroxidation and seminal plasma biochemistry of rabbits as affected by feeding *Acacia saligna* under subtropical conditions. Food and Chemical Toxicology, 43: 333-339.

7. ANEXOS

7.1 Anexo 1: Investigación presentada en el Symposium de Cunicultura de 2023: Evaluación de la calidad espermática en líneas de conejo seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada.

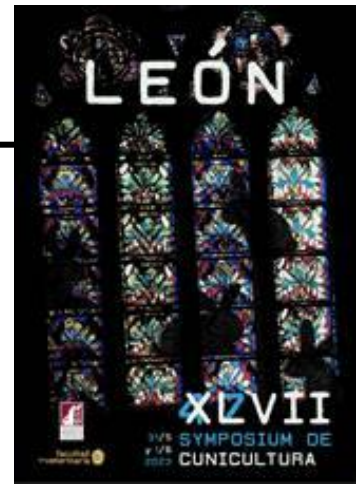


47 Symposium de Cunicultura de ASESUCU

León, 31 de mayo y 1 de junio de 2023

facultad
de veterinaria 

 universid
de león



León, 7 de junio de 2023

Mariam Pascual Amorós, Secretaria de la Asociación Española de Cunicultura (ASESCU),

CERTIFICA que la comunicación titulada:

Evaluación de la calidad espermática en líneas de conejo seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada. Baeza M, Serrano D, Argente MJ, García ML.

ha sido presentada en modalidad ORAL en el 47 Symposium de Cunicultura, organizado por ASESUCU en colaboración con Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, y que se celebró los días 31 de mayo y 1 de junio de 2023 en León.



PASCUAL AMOROS,
MARIA DE LOS
DESAMPARADOS
(FIRMA)

Signat digitalment per
PASCUAL AMOROS, MARIA DE
LOS DESAMPARADOS (FIRMA)
Data: 2023.06.07 15:47:01
+02'00'

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CUNICULTURA

RAMA ESPAÑOLA DE LA ASOCIACIÓN CIENTÍFICA MUNDIAL DE CUNICULTURA (W.R.S.A.)

asescu@asescu.com - 675 664 683

Evaluación de la calidad espermática en líneas de conejo seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada

Assessment of sperm quality in rabbit lines divergently selected for litter size variability

Baeza M, Serrano D, Argente MJ, García ML

Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH),

Universidad Miguel Hernández, Ctra. de Beniel km 3,2., 03312 Orihuela, Spain

marina.baeza@goumh.umh.es.

Resumen: El objetivo de este trabajo es estudiar la respuesta correlacionada en calidad espermática de dos líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada: línea High seleccionada para incrementar la variabilidad del tamaño de camada y línea Low seleccionada para disminuir la variabilidad. Para ello, se analizaron 136 muestras de semen procedentes de 34 conejos jóvenes de ambas líneas. Se extrajeron dos muestras de semen por macho cada 7 días durante 6 semanas y se analizaron los siguientes parámetros de calidad espermática: volumen, gel, motilidad, concentración, producción total, porcentaje de espermatozoides normales, porcentaje de espermatozoides con gota, porcentaje de espermatozoides anormales de cabeza, cola y pieza intermedia, porcentaje de acrosomas reaccionados y porcentaje de espermatozoides vivo y muertos. Los análisis estadísticos se realizaron con metodología bayesiana. Los resultados obtenidos indicaron que ambas líneas presentaron valores similares para el volumen (0,85 ml para la línea Low y 0,84 ml para la línea High), motilidad (4,50 y 4,68), concentración (21,88 y 24,98 millones de espermatozoides), porcentaje de espermatozoides normales (85,66 y 88,09%) y porcentaje de acrosomas reaccionados (2,37 y 2,62%). La línea Low presentó una mayor viabilidad espermática (88,77% de espermatozoides vivos) que la línea High (79,55%; $P = 95\%$). En conclusión, la selección por variabilidad del tamaño de camada parece que no ha producido una respuesta correlacionada en la calidad del semen en machos que inician su vida productiva, a excepción de la viabilidad que es superior en la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada.

Palabras clave: Resiliencia, respuesta correlacionada, selección, viabilidad espermática.

Abstract: The objective is to study the correlated response in sperm quality of two lines divergently selected for litter size variability: High line selected to increase litter size variability and Low line selected to decrease litter size variability. For this purpose, 136 semen samples from 34 young rabbits of both lines were analysed. Two semen samples per male were extracted every 7 days for 6 weeks and the following sperm quality parameters were analysed: volume, gel, motility, concentration, total production, percentage of normal spermatozoa, percentage of drop, percentage of abnormal head, tail and midpiece spermatozoa, percentage of reacted acrosomes and percentage of live and dead spermatozoa.

Statistical analyses were performed using Bayesian methodology. Both lines showed similar values for volume (0.85 ml for the Low line and 0.84 ml for the High line), motility (4.50 and 4.68), concentration (21.88 and 24.98 million spermatozoa), percentage of normal spermatozoa (85.66 and 88.09%) and percentage of reacted acrosomes (2.37 and 2.62%). The Low line showed higher sperm viability (88.77% of live spermatozoa) than the High line (79.55%; $P = 95\%$). In conclusion, selection for litter size variability does not seem to have produced a correlated response in semen quality in males starting their productive life, except for viability which is higher in the line selected to homogenise litter size.

Keywords: correlated response, resilience, selection, semen viability.

Introducción

En cunicultura, se están llevando a cabo programas de mejora genética desde hace más de cuatro décadas para incrementar la productividad en las explotaciones ganaderas. Hoy en día, todos los eslabones de la cadena de producción, desde el ganadero hasta el consumidor, están concienciados en producir de forma rentable un producto de calidad y con unos estándares de bienestar (Agea et al., 2020). La selección de dos líneas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada al nacimiento ha conducido a que la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada (línea Low) sea más resistente a enfermedades y al estrés, y por tanto tenga un mayor bienestar animal, que la línea seleccionada para aumentar dicha variabilidad (línea High) (Argente et al., 2019). Además, la productividad de la línea Low es superior a la de la línea High (Blasco et al., 2017).

La línea Low tiene interés para los productores de carne de conejo pues puede ser utilizada como una de las líneas maternas en la obtención de la hembra híbrida del cruce a tres vías. La difusión de esta línea a los ganaderos se realizaría principalmente a través de las dosis de semen de sus machos. En este sentido, evaluar las características del semen proporciona información sobre su capacidad fecundante (Brun et al., 2002), ya que las características seminales se ven afectadas por factores genéticos, de alimentación, estado de salud, condición de cría, estación y frecuencia de recogida (Alvariño, 2000).

El objetivo de este trabajo es estudiar la respuesta correlacionada en calidad espermática de dos líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de 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.

1. Material animal

Se analizaron 136 muestras de semen procedentes de 34 conejos jóvenes entre los 4,5 y 6 meses de edad. Los machos pertenecen a la generación 17 de selección de un experimento divergente por variabilidad ambiental en tamaño de camada (Blasco et al., 2017). Los animales fueron alojados en la granja de la Escuela Politécnica de Orihuela de la UMH. Los animales se ubicaron en jaulas individuales y se les administró un pienso comercial. El acceso a la alimentación y el agua fue *ad libitum*. El ambiente fue controlado con un fotoperiodo de 16 L: 8D. Las temperaturas oscilaron entre 11-17 °C y la humedad relativa entre el 46-98%.

2. Diseño experimental

Se extrajeron dos muestras de semen por macho cada 7 días, con una separación de tiempo entre cada una de 30 minutos. La extracción se realizó a través de una vagina artificial de silicona, previamente calentada. En la muestra se analizó la presencia de gel, y se midió el volumen. La muestra se diluyó 1/1 con un medio tris-cítrico-glucosa y se midió la motilidad bajo microscopio con una lente de 40x en una escala del 0 (siendo el valor más bajo) al 5 (siendo el valor más alto). Por último, se analizó el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos con una tinción de eosina/negrosina sobre una muestra de 100 espermatozoides. Las dos extracciones de un mismo macho se mezclaron y se realizó una dilución 1:9 con glutaraldehído al 0,2%. Se analizó la concentración de espermatozoides con una cámara Bürker, la producción total de espermatozoides y el porcentaje de espermatozoides normales, con gota, anormales de cola, anormales de cabeza, de pieza intermedia y de acrosoma reaccionado.

3. Modelo estadístico

El modelo estadístico incluyó las covariables del peso y la edad del macho y los efectos de línea (con 2 niveles, Low y High), semana (con 6 niveles, excepto para el porcentaje de vivos y muertos que fueron 5 niveles), gel (con 2 niveles, presencia y ausencia), animal y el error. En el caso del volumen, la motilidad y el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos además se incluyó el efecto de orden de recogida (con 2 niveles, primera o segunda). Se utilizó metodología bayesiana con el programa Rabbit.

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra las diferencias en volumen, presencia de gel, motilidad, concentración y producción total entre las líneas seleccionadas divergentemente por variabilidad del tamaño de camada. Ambas líneas presentaron valores similares para estos caracteres. Por tanto, no se ha producido una respuesta correlacionada a la selección para estos caracteres. Los valores obtenidos para el volumen fueron superiores a los observados por Fouda et al. (2022) para la línea APRI con el mismo fotoperiodo. También la motilidad presentó valores superiores en estudios anteriores de estas mismas líneas (Díaz et al., 2021). La concentración y producción total de espermatozoides es muy inferior a los encontrados para machos adultos de la línea materna V criada en Alejandría (El-Gindy, 2021). García et al. (2004) observaron que las características seminales mejoran con la edad, siendo la edad de máxima producción entre los 10-18 meses de edad.

El porcentaje de espermatozoides normales fue alto y similar en ambas líneas (85%; P = 63%, Tabla 2). Tampoco se ha producido una respuesta correlacionada en otros parámetros como el porcentaje de gota citoplasmática (alrededor de un 8%; P = 69%), el porcentaje de anormales de cola (alrededor del 12.5%; P = 72%), y el porcentaje de anormales de pieza intermedia y de acrosoma reaccionado (P = 77%). Los valores de gota citoplasmática son superiores a los encontrados para estas mismas líneas por Díaz et al. (2021). Este resultado está justificado por la edad de los machos de este trabajo que acaban de empezar su vida productiva, lo que lleva asociado un mayor porcentaje de gota citoplasmática como un síntoma de inmadurez del macho. La calidad espermática es alta comparada con los resultados de El-Ratel et al. (2022) que obtuvo un mayor porcentaje de espermatozoides anormales tanto de cabeza como de cola. Además, la capacidad fecundante de los espermatozoides podría ser elevada, dado el bajo porcentaje de espermatozoides con el acrosoma reaccionado, similares a machos adultos de estas mismas líneas (Díaz et al., 2021).

Tabla 1. Diferencias de las características del semen (I) entre las líneas Low y High.

	Línea		D	HPD _{95%}	P (%)
	Low	High			
Volumen (ml)	0,85	0,84	0,01	-0,12;0,13	56
Gel	0,40	0,36	0,04	-0,22;0,28	64
Motilidad	4,50	4,68	-0,18	-0,52;0,15	86
Concentración (10 ⁶ /ml)	21,88	24,98	-3,10	-13,85;8,16	70
Producción total (10 ⁶)	66,36	73,38	-7,02	-49,81;31,71	64

D: diferencia entre las líneas Low y High. HPD_{95%}: región de alta densidad al 95%. P: probabilidad de que la diferencia sea > 0 cuando D > 0, o sea < 0 cuando D < 0.

Tabla 2. Diferencias de las características del semen (II) entre las líneas Low y High.

Espermatozoides	Línea		D	HPD _{95%}	P (%)
	Low	High			
Normales (%)	85,70	85,09	0,57	-2,61;4,77	63
Gota (%)	8,94	8,06	0,88	-2,71;4,69	69
Anormales Cola (%)	12,21	13,18	-1,06	-4,52;2,39	72
Anormales Cabeza (%)	1,07	0,99	0,05	-0,42;0,54	58
Anormales Pieza intermedia (%)	0,92	0,72	0,20	-0,34;0,76	77
Acrosoma reaccionado (%)	2,37	2,62	-0,25	-0,96;0,49	77
Vivos (%)	88,77	79,55	9,22	-1,29;20,99	95
Muertos (%)	11,21	20,26	-9,05	-19,51;2,68	95

D: diferencia entre las líneas Low y High. HPD_{95%}: región de alta densidad al 95%. P: probabilidad de que la diferencia sea > 0 cuando D > 0, o sea < 0 cuando D < 0.

La viabilidad de los espermatozoides es superior en la línea Low (88,77% de espermatozoides vivos) que en la línea High (79,55 % de espermatozoides vivos; P = 95%). Los valores obtenidos son superiores a los mostrados por Adeyemi et al. (2020) con la misma metodología de tinción.

En conclusión, la selección por variabilidad del tamaño de camada parece que no ha producido una respuesta correlacionada sobre la calidad del semen en machos que inician su vida productiva, a excepción de la viabilidad que es superior en la línea seleccionada para homogeneizar el tamaño de camada. Sin embargo, son necesarios más estudios que amplíen la edad de los machos y estudien la relación entre la calidad del espermatozoide con la fertilidad.

Agradecimientos

Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y ha sido financiado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana.

Bibliografía

- Adeyemi AA, Ibrahim OW, Ajayi OO, Ayeni ST. 2020. Semen indices, growth response and sperm reserve of male rabbits fed zinc supplemented diets. *World Rabbit Sci* 28: 199-206.
- Agea I, García ML, Argente MJ, Blasco A. 2020. Selección por variabilidad del tamaño de camada: una metodología indirecta para mejorar el bienestar de la coneja. *Boletín de cunicultura* 192: 29-31.
- Alvariño JMR. 2000. Reproductive performance of male rabbits. *En: 7th World Rabbit Congress*. Valencia, España, pp. 13-36.
- 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(10): 2348-2355.
- Blasco A, Martínez-Álvaro M, García ML, Ibáñez-Escriche N, Argente MJ. 2017. Selección por sensibilidad ambiental genética del tamaño de camada en conejos. *Genetics Selection Evolution*, 49 pp. 48-55.
- 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.
- Díaz JV, Argente MJ, García ML. 2021. Effect of postbiotic based on lactic acid bacteria on semen quality and health of male rabbits. *Animals* 11: 1007.
- El-Gindy YM. 2021. Improvement in quality and storage ability of rabbit semen by using black or thyme seed as dietary supplementation. *J Anim Physiol Anim Nutr* 106: 642-654.
- El-Ratel I, El-Moghazy M, El-Gaml A, El-Naser IA. 2022. Effects of propolis ethanolic extract administration on quality of fresh and cryopreserved semen, redox status, and sperm flow cytometry parameters of heat-stressed rabbit bucks. *Adv Anim Vet Sci* 10(12): 2578-2588.
- Fouda SF, El-Raghi AA, Abdel-Khalek E, Hassan MA, El-Ratel IT. 2022. Impact of lighting regimes on reproductive performance and sperm ultrastructure in rabbit bucks under very severe heat stress conditions. *Livest Sci* 255:104780.
- García ML, Andrés I, Caselles P, Lavara R. 2004. Estudio de la edad de los machos de conejo en la inseminación artificial. *Boletín de Cunicultura* 132: 17.

7.2 Anexo 2: Investigación presentada en el Symposium de Cunicultura de 2023: Evaluación del estrés con termografía de infrarrojos tras la extracción espermática en conejos.



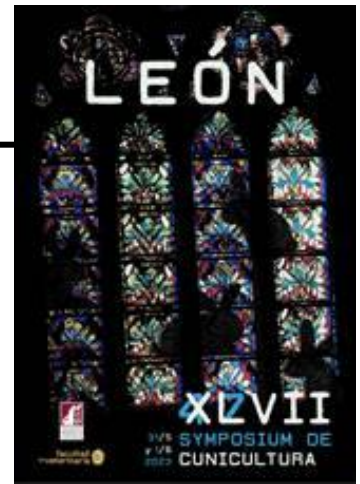
47 Symposium de Cunicultura de ADESCU

León, 31 de mayo y 1 de junio de 2023

facultad
de veterinaria 



universidad
de león



León, 7 de junio de 2023

Mariam Pascual Amorós, Secretaria de la Asociación Española de Cunicultura (ADESCU),

CERTIFICA que la comunicación titulada:

Evaluación del estrés con termografía de infrarrojos tras la extracción espermática en conejos. Serrano-Jara D, Baeza M, Agea I, Argente MJ, García ML.

ha sido presentada en modalidad ORAL en el 47 Symposium de Cunicultura, organizado por ADESCU en colaboración con Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, y que se celebró los días 31 de mayo y 1 de junio de 2023 en León.



PASCUAL AMOROS,
MARIA DE LOS
DESAMPARADOS
(FIRMA)

Signat digitalment per
PASCUAL AMOROS, MARIA DE
LOS DESAMPARADOS (FIRMA)
Data: 2023.06.07 15:47:01
+02'00'

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CUNICULTURA

RAMA ESPAÑOLA DE LA ASOCIACIÓN CIENTÍFICA MUNDIAL DE CUNICULTURA (W.R.S.A.)

asescu@asescu.com - 675 664 683

Evaluación del estrés con termografía de infrarrojos tras la extracción espermática en conejos

Stress assessment by infrared thermography after sperm extraction in rabbits

Serrano-Jara D, Baeza M, Agea I, Argente MJ, García ML*

¹Centro de Investigación e Innovación Agroalimentaria y Agroambiental (CIAGRO-UMH), Universidad Miguel Hernández de Elche, 03312 Orihuela, España.

*mariluz.garcia@umh.es

Resumen: El presente trabajo estudió la evolución de la temperatura corporal medida TIR de 20 conejos machos, tras la exposición a un estímulo de estrés agudo basado en un proceso rutinario de manejo como la extracción espermática. La temperatura fue medida en el globo ocular y la nariz en 15 momentos por animal y región anatómica distribuidos en 90 minutos. La primera extracción se realizó tras medir la temperatura basal en el minuto 0 y la segunda extracción después del minuto 30. La duración del experimento fue de 6 semanas. La temperatura basal en el globo ocular y nariz fue de $36,20 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ y $32,85 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$, respectivamente. Tras la primera extracción, la temperatura experimentó un incremento en el minuto 1 tanto en el globo ocular ($36,49 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$) como en la nariz ($34,20 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$); tras la segunda, el valor máximo se localizó en el minuto 35 ($36,46 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$) en el globo ocular y 31 ($34,95 \pm 0,27^{\circ}\text{C}$) en la nariz. En ambos casos la estabilización se produjo en el minuto 50. En conclusión, la TIR mostró ser un método adecuado para valorar la evolución térmica de la superficie corporal en animales expuestos a un estímulo de estrés agudo. Asimismo, ambas regiones anatómicas fueron localizaciones propicias para realizar la valoración.

Palabras clave: conejo, estrés, temperatura, termografía.

Abstract: The present research learned the evolution of the body temperature measured by IRT of 20 male rabbits, after exposure to an acute stress stimulus based on a routine management process such as sperm extraction. Temperature was measured in the eyeball and nose at 15 moments per animal and anatomical region distributed over 90 minutes. The first extraction was performed after measured basal temperature at minute 0 and the second extraction was after minute 30. The experiment lasted 6 weeks. Basal temperature in the eyeball and nose was $36.20 \pm 0.15^{\circ}\text{C}$ and $32.85 \pm 0.30^{\circ}\text{C}$, respectively. After the first extraction, the temperature increased at minute 1 both in the eyeball ($36.49 \pm 0.15^{\circ}\text{C}$) and in the nose ($34.20 \pm 0.28^{\circ}\text{C}$); after the second extraction, the maximum value was at minute 35 ($36.46 \pm 0.15^{\circ}\text{C}$) in the eyeball and 31 ($34.95 \pm 0.27^{\circ}\text{C}$) in the nose. In both cases, stabilization took place at minute 50. In conclusion, the IRT could be an adequate method to evaluate the thermal evolution of the body surface in animals exposed to an acute stress stimulus. Likewise, both anatomical regions were propitious locations to carry out the assessment.

Keywords: rabbit, stress, temperature, thermography.

Introducción

El avance científico-técnico en la producción animal ha permitido ampliar el concepto de bienestar animal durante las últimas décadas. Palumbo et al. (2020) definieron el estrés

como cualquier situación capaz de perturbar la homeostasis fisiológica o psicológica. Por su parte, Luthar et al. (2000) definieron la resiliencia como un proceso de desarrollo dinámico que abarca la capacidad de un individuo para adaptarse positivamente después de una adversidad significativa. Sin embargo, esta aptitud no es similar en todos los animales (Broom, 2011) y una respuesta inadecuada ante un estímulo estresante puede desembocar en el empeoramiento de las condiciones de bienestar y, consecuentemente, en la disminución del rendimiento productivo (Kowalska et al., 2011).

La temperatura corporal es utilizada como un parámetro de gran interés para valorar la respuesta al estrés en un animal (Stewart et al., 2005). La termografía infrarroja (TIR) constituye un método no invasivo capaz de detectar satisfactoriamente la temperatura de la superficie corporal (Ludwig et al., 2007; McCafferty, 2013). En el conejo, la TIR ha sido utilizada para la medición de la temperatura corporal tras la exposición a situaciones de estrés agudo relacionadas con el manejo en gazapos de engorde (Jaén-Téllez et al., 2020) y en hembras (Agea et al., 2022).

El objetivo del presente estudio ha consistido en analizar la variación de temperatura corporal en el conejo tras un procedimiento rutinario de estrés agudo como la extracción espermática.

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.

1. 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, fotoperiodo de 16:8 y alimentación ad libitum con un pienso comercial.

Se utilizaron un total de 20 machos pertenecientes a la 17ª generación de un experimento de selección divergente por variabilidad de tamaño de camada (Blasco et al., 2017). El rango de edad de los animales se encontró entre 4,5 y 6 meses. El peso medio durante el desarrollo experimental fue de 3,09 Kg.

Se midió la emisividad de la temperatura corporal mediante la TIR en el globo ocular y la nariz. Las imágenes fueron obtenidas mediante una cámara termográfica @FLIR SC660 y se procesaron con el software @ThermaCAM Researcher Pro 2.10 para obtener el registro de temperatura (Figura 1). La cámara fue calibrada según la temperatura, la humedad relativa, la emisividad y la distancia con respecto al sujeto.

La toma de datos se realizó durante 6 semanas y las mediciones se llevaron a cabo en 15 momentos distribuidos a lo largo de 90 minutos (0, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 31, 35, 40, 50, 60, 70, 90 minutos) en cada región anatómica. Durante la toma de muestras los conejos fueron sujetos durante aproximadamente 1 minuto. La extracción espermática se realizó en dos ocasiones: la primera tuvo lugar tras medir la temperatura basal en el minuto 0 y la segunda después del minuto 30.

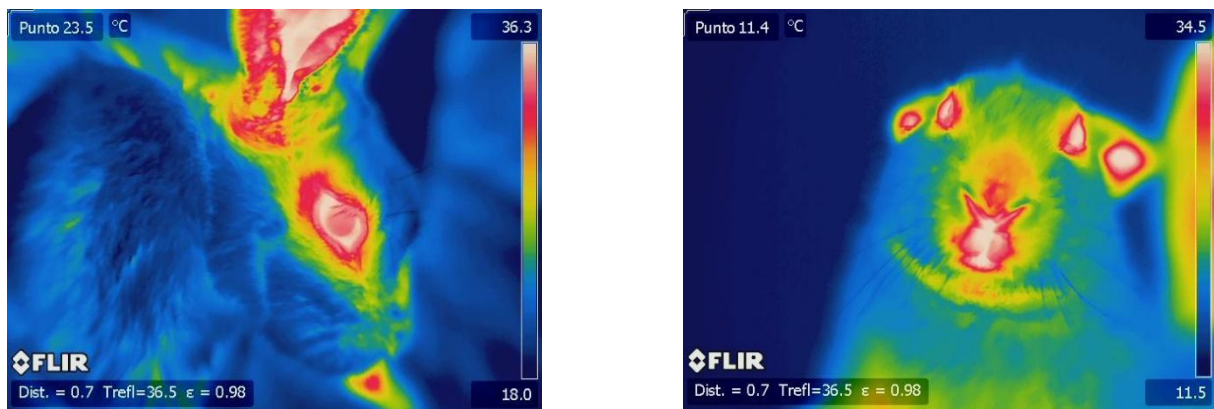


Figura 1. Imágenes del globo ocular y nariz tomadas con la cámara termográfica ®FLIR SC660.

2. Análisis estadístico

El modelo utilizado para analizar la temperatura en el globo ocular y la nariz incluyó los efectos de línea con dos niveles y de semana con seis niveles, junto con el animal como efecto aleatorio y su peso como covariable. Se utilizó el programa Rabbit desarrollado por la Universidad Politécnica de Valencia.

Resultados y discusión

En el globo ocular (Figura 2), la temperatura basal fue de $36,20 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$. Tras la primera y segunda extracción espermática se observó un aumento brusco de temperatura, siendo la probabilidad (P) de que la diferencia entre estos momentos sea menor de 0 de 0,99. En el minuto 1 la temperatura alcanzó los $36,49 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$, correspondiéndose con la temperatura máxima observada en esta región anatómica. En el minuto 31 la temperatura alcanzó los $36,31 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$. Este efecto coincide con el aumento de temperatura corporal que tiene lugar por una mayor presencia glóbulos rojos en el torrente sanguíneo debido a la acción indirecta de la liberación de adrenalina y noradrenalina (catecolaminas) por parte de la médula adrenal, ante la presencia de un estímulo estresante (Axelrod y Reisine, 1984; Cunningham, 1999).

En el caso de la segunda extracción, el aumento de temperatura se sostuvo hasta el minuto 35 ($36,46 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$), aunque no se observó una diferencia relevante con respecto al minuto 31 ($P = 0,70$). Este resultado concuerda con el brusco incremento de la temperatura a los 5 minutos después de un estímulo estresante producido por la monta, en las hembras de la línea seleccionada por homogeneidad en tamaño de camada encontrado por Agea et al. (2022).

Entre el minuto 1 y 5 ($36,13 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$) se produjo un descenso brusco de temperatura ($P = 0,99$). Este suceso puede deberse a que las catecolaminas tienen una vida media en el torrente sanguíneo de unos pocos minutos (Peaston y Weinkove, 2004). Además, a partir del minuto se produce un aumento progresivo de corticoesterona (Gascón y Arribas, 1987) dando lugar a un descenso de la temperatura.

Finalmente, en el minuto 50 ($36,20 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$) se produjo un descenso ($P = 0,91$) hasta valores similares a los de la temperatura basal. Mientras que tras la primera extracción la estabilización frente al estímulo de estrés agudo se produjo rápidamente, en la segunda se prolongó hasta los 20 minutos. Esta evolución podría indicar que la fase de estrés agudo tras

un segundo estímulo estresante se prolonga cuando tiene lugar en un periodo de tiempo reducido.

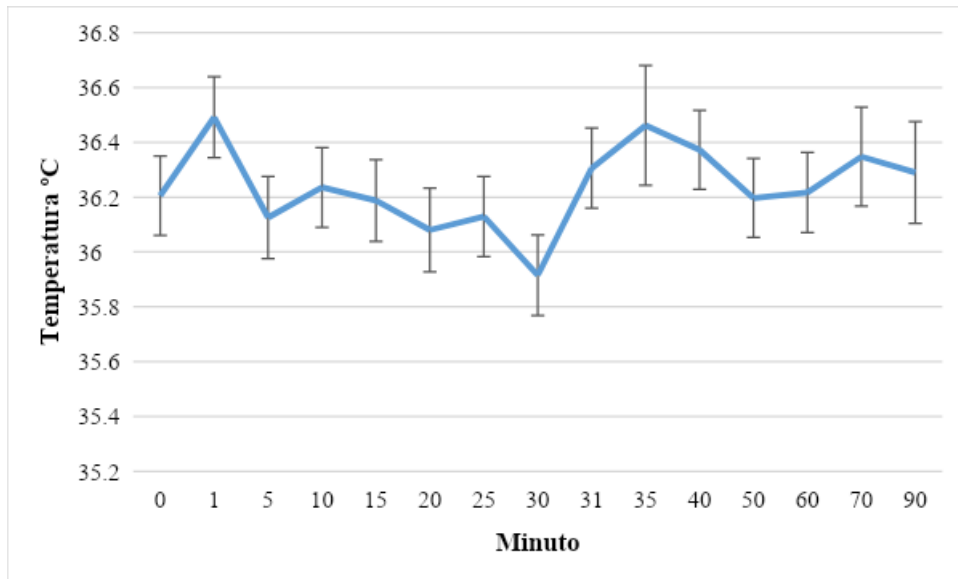


Figura 2. Evolución de la temperatura del globo ocular. Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar.

En la nariz (Figura 3), la temperatura basal fue de $32,85 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$. En consonancia con lo descrito anteriormente, en el minuto 1 se produjo un aumento brusco de temperatura ($34,20 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$; $P = 1$). Sin embargo, en la presente región anatómica se observó un nuevo ascenso relevante en el minuto 20 ($34,86 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$) con respecto al minuto 1 ($P = 0,98$). En el minuto 30, al igual que en el globo ocular, tuvo lugar un marcado descenso de la temperatura ($34,17 \pm 0,29^{\circ}\text{C}$, $P = 0,98$), para posteriormente volver a ascender en el minuto 31 ($34,95 \pm 0,27$; $P = 0,99$), tras haber realizado la segunda extracción espermática. Por último, de forma similar a lo observado anteriormente, el descenso de la temperatura se localizó en el minuto 50 ($34,43 \pm 0,28^{\circ}\text{C}$; $P = 0,94$).

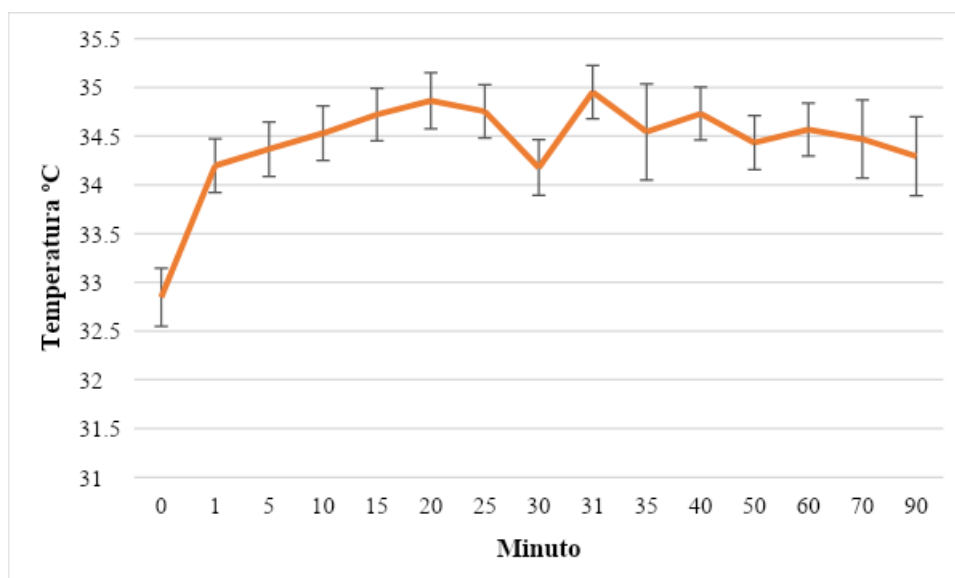


Figura 3. Evolución de la temperatura nasal. Las barras verticales indican el valor de la desviación estándar.

En términos generales se observa un patrón similar al descrito en el globo ocular. Sin embargo, la menor temperatura registrada, así como la diferencia descrita en el primer periodo tras la primera extracción, podría deberse, tal y como señalaron (Luzi et al., 2007), a la influencia que ejerce la temperatura ambiente sobre la TIR en la región nasal.

En conclusión, tanto la TIR realizada sobre el globo ocular y la nariz se muestra como herramienta adecuada para la valoración de los cambios de temperatura promovidos por la exposición a un estímulo de estrés agudo. Asimismo, ambas regiones anatómicas fueron localizaciones propicias para realizar la valoración.

Agradecimientos: Este estudio forma parte del programa AGROALNEXT y ha sido financiado por MCIN con fondos de la Unión Europea NextGenerationEU (PRTR-C17.11) y por la Generalitat Valenciana.

Bibliografía

- Agea I, Hadjadj I, García ML, Argente MJ. 2002. Selección por variabilidad ambiental del tamaño de camada. II: Emisividad de la temperatura corporal. *En: 46th Symposium de Cunicultura: Asociación Española de Cunicultura. Barcelona, España, pp. 27-31.*
- Axelrod J, Reisine TD. 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science* 224(4648): 452-459.
- Blasco A, Martínez-Álvaro M, García ML, Ibáñez-Escriche N, Argente MJ. 2017. Selection for environmental variance of litter size in rabbits. *Genet Sel* 49(1): 1-8.
- Broom DM. 2011. Animal welfare: concepts, study methods and indicators. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 24(3): 306-321.
- Cunningham J. 1999. Fisiología veterinaria. Interamericana, Ciudad de Mexico, Mexico.
- Gascón FM, Arribas MTV. 1987. Efecto estresante de la manipulación en el conejo *En: 12th Symposium de Cunicultura: Asociación Española de Cunicultura. Guadalajara, España, pp. 125-132.*
- Jaén-Téllez JA, Sánchez-Guerrero MJ, López-Campos JI, Valera M, González-Redondo P. 2020. Acute stress assessment using infrared thermography in fattening rabbits reacting to handling under winter and summer conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research* 18(2): e0502-e0502.
- Kowalska D, Gugolek A, Bielanski P. 2011. Effect of stress on rabbit meat quality. *Ann Anim Sci* 11(3): 465-475.
- Ludwig N, Gargano M, Luzi F, Carezzi C, Verga M. 2007. Technical note: applicability of infrared thermography as a non invasive measurement of stress in rabbit. *World Rabbit Sci* 15(4): 199-206.
- Luthar SS, Cicchetti D, Becker B. 2000. The construct of resilience: A critical evaluation and guidelines for future work. *Child Dev* 71(3), 543-562.
- Luzi F, Ludwig N, Monzani M, Gargano M, Ricci C, Redaelli V, Verga M. 2007. Procedures for analyses of sequence of thermal images in welfare study of rabbit. *En: 4th. International Workshop on the Assessment of Animal Welfare at Farm and Group Level (WAFL). Ghent, Bélgica, pp. 10-13.*
- McCafferty DJ. 2013. Applications of thermal imaging in avian science. *Ibis*, 155(1): 4-15.
- Palumbo ML, Prochnik A, Wald MR, Genaro AM. 2020. Chronic stress and glucocorticoid receptor resistance in asthma. *Clin Ther* 42(6): 993-1006.
- Peaston RT, Weinkove C. 2004. Measurement of catecholamines and their metabolites. *Ann Clin Biochem* 41(1): 17-38.

Stewart M, Webster JR, Schaefer AL, Cook NJ, Scott SL. 2005. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. *Anim Welf* 14(4): 319-325.