

EFFECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIANZA RESIDUAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE LA SENSIBILIDAD A ENFERMEDADES Y ESTRÉS

Argente¹, M.J., García¹, M.L. y Blasco², A.

¹Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra de Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela, Spain. ² Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universitat Politècnica de València. P.O. Box 22012. 46071 Valencia, Spain.
mj.argente@umh.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha incrementado el interés por conocer la determinación genética de la varianza ambiental. Actualmente, se está llevando a cabo un experimento de selección divergente por varianza residual del tamaño de la camada en conejo; tras siete generaciones de selección, las líneas mostraron una diferencia de 1,19 gazapos² (30% de la media) para la variabilidad del tamaño de camada (Argente et al., 2014). Este es el primer experimento donde la selección se ha realizado directamente sobre la varianza ambiental, tratándola como un carácter observado. Nuestra hipótesis de trabajo es que las hembras con genotipos menos adaptables mostrarían una mayor sensibilidad a las enfermedades y al estrés, y una mayor variabilidad en el tamaño de la camada; es decir, estas hembras tendrían una menor resiliencia; esto es, una menor capacidad de recuperarse frente a una agresión del medio. La resiliencia está estrechamente relacionada con el bienestar, por lo que reducir la variación ambiental puede producir animales que logran adaptarse mejor a su entorno. El objetivo de este trabajo es analizar si la selección por varianza residual del tamaño de camada afecta la resistencia a enfermar y al estrés, y en consecuencia sobre el bienestar del animal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Las hembras de este estudio pertenecieron a la octava generación de un experimento de selección divergente por varianza residual del tamaño de la camada (más detalles en Argente et al., 2014). Dichas hembras se alojaron en las instalaciones de la Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH) bajo un fotoperiodo constante de 16 h de luz: 8 h de oscuridad y ventilación controlada. La alimentación fue *ad libitum* con un pienso comercial (Cunilactal, Nutreco). Se tomó una muestra de sangre en la arteria central de la oreja a las 18 semanas de edad (día 0). Después de esto, la mitad de las hembras fueron vacunadas contra la enfermedad vírica hemorrágica (CUNIPRAVAC® RHD), y la otra mitad contra la mixomatosis (MIXOHIPRA® H). Tres días más tarde, se volvió a tomar otra muestra de sangre (día 3).

Marcadores de resiliencia. *Hemograma:* Se midió la concentración de glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hb), glóbulos blancos (GB), linfocitos (LIN), neutrófilos (NEU), monocitos (MON), eosinófilos (EOS), basófilos (BAS) y plaquetas (PLT) los días 0 y 3 del experimento en 20 hembras de la línea de alta y 20 hembras de la línea de baja variabilidad en tamaño de camada, para ello se utilizó el equipo de hematología ADVIA®120.

Proteína de la fase aguda: La concentración de proteína C reactiva (PCR) en sangre fue medida en 69 hembras de la línea de alta y 80 hembras de la línea de baja, para ello se utilizó un kit comercial de enzimoimmunoensayo (ELISA) (Life Diagnostics, Inc, PA, USA). La concentración de proteína C reactiva fue medida también los días 0 y 3 del experimento.

Cortisol: La concentración de cortisol en sangre fue medida en 29 hembras de la línea de alta y 25 hembras de la línea de baja. Se tomó una muestra de sangre a las 18 semanas de vida del animal. Después de esto, se inyectó intramuscularmente 30 µg/kg de ACTH a todas las hembras. Se recogió otra muestra de sangre a las 4 h después de la inyección de ACTH, siguiendo el protocolo de Guelfi et al. (2011). La concentración de cortisol en sangre fue medida con un kits ELISA (Endocrine Technologies, Inc., CA, USA).

Análisis estadístico. El modelo utilizado para analizar las diferencias entre la línea de alta y de baja variabilidad antes de la vacunación sólo incluye el efecto línea. Para analizar las diferencias entre líneas después de la vacunación, el modelo incluyó además el efecto del

tipo de vacuna. Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana, con aprioris planos acotados para todos los parámetros desconocidos. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron usando muestreo de Gibbs (ver, por ejemplo, Blasco, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 presenta las diferencias entre la línea de alta y de baja variabilidad para los parámetros hematológicos analizados, la proteína C reactiva y el cortisol. Los valores del hemograma y la proteína C reactiva proporcionan información valiosa sobre el estado de salud del animal y su susceptibilidad a procesos infecciosos. Después de ocho generaciones de selección, las líneas mostraron un recuento similar de glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hb) y plaquetas (PLT) a las 18 semanas de edad. Sin embargo, la línea de alta variabilidad mostró un mayor porcentaje de linfocitos (4,14) y monocitos (0,37), y un menor porcentaje de neutrófilos (-4,19) ($P(D>0)$ = 0,93, 0,80 y 0,95 respectivamente). Los neutrófilos tienen una vida corta y están en la primera línea de la defensa innata contra las enfermedades infecciosas (Kumar y Sharma, 2010). Si la infección persiste, otras células como los linfocitos y los monocitos son activados, jugando un papel importante en la lucha contra los agentes infecciosos (Goldman y Prabhakar, 1996). También, la concentración de proteína C reactiva fue mayor en esta línea ($P(D>0)$ = 0,96). Un mayor porcentaje de linfocitos y concentración de proteína C reactiva, junto con un menor porcentaje de neutrófilos, en la línea de alta variabilidad sugieren que la selección contra la homogeneidad en el tamaño de la camada va acompañada de cambios en la respuesta inmunológica, mostrando dicha línea una mayor susceptibilidad a los microorganismos habituales que se encuentran en el microambiente de una granja.

La enfermedad vírica hemorrágica (RHD) y la mixomatosis son enfermedades endémicas en conejo. Después de la vacunación contra ambos virus, la línea de baja variabilidad tuvo un mayor porcentaje de linfocitos ($P(D>0)$ = 0,85) y una mayor concentración de proteína C reactiva ($P(D>0)$ = 0,91), experimentando un mayor incremento en el porcentaje de linfocitos (6,12% vs. -1,12%) y en la concentración de proteína C reactiva (29,35 $\mu\text{g/ml}$ vs. 10,60 $\mu\text{g/ml}$); es decir, esta línea tiene una respuesta inmunitaria más alta y rápida que la línea seleccionada para incrementar la variabilidad del tamaño de camada.

El ACTH se libera de forma natural al torrente sanguíneo en el organismo como respuesta al estrés, y conduce a un incremento en los niveles de glucocorticoides (cortisol, corticosterona) en sangre. Inyectar ACTH produce la misma respuesta en el animal. Antes de inyectar ACTH, la línea de alta variabilidad tenía un nivel basal de cortisol más alto ($P(D>0)$ = 1,00) que la línea de baja. La diferencia entre las líneas aumentó sustancialmente después de la inyección de ACTH, siendo menor la respuesta al estrés en la línea seleccionada para disminuir la variabilidad del tamaño de camada, y por lo que en consecuencia esta línea tendría también una mayor resiliencia.

Podemos concluir que la resiliencia de la hembra, su capacidad para afrontar una agresión, está genéticamente relacionada con la variabilidad o sensibilidad ambiental, de forma que la línea seleccionada para tener una menor variabilidad en tamaño de camada hace frente a la agresión de agentes patógenos mejor que la seleccionada para una mayor heterogeneidad. Esto tiene consecuencias sobre la resistencia a las enfermedades, pero también sobre el bienestar de los animales, ya que los animales que mejor se enfrentan a su medio ambiente tienen un mayor bienestar que los animales más sensibles.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., García, M.L., Muelas, R. & Blasco A. 2014. In Proceedings of 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Vancouver, Canada, paper 149.
- Blasco, A. 2017. Bayesian data analysis for animal scientists. Springer. New York, USA
- Goldman, A.S. & Prabhakar, B.S. 1996. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th

edition. Galveston. • Guelfi, G, Zerani, M, Brecchia, G, Parillo, F, Dall'Aglio, C, Maranesi, M & Boiti, C. 2011. Mol. Cell Endocrinol. 2011: 339: 63-71. • Kumar, V. & Sharma, A. 2010. International Immunopharmacology 10: 1325-1334.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por los proyectos AGL2011-29831-C03-02 y AGL2014-55921-C2-2-P.

Tabla 1. Media y Desviación Estándar (DE) en la línea de alta y de baja variabilidad para el tamaño de camada, y parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre ambas líneas.

	Línea alta		Línea baja		D _{H-L}	P
	Media	DE	Media	DE		
<i>. Antes de la vacunación</i>						
GR (x10 ⁶ /μL)	5,46	0,73	5,38	0,49	0,07	0,62
Hb (g/dL)	11,3	1,36	11,6	0,82	-0,24	0,73
GB (x10 ³ /μL)	9,27	2,48	9,60	2,59	-0,33	0,64
LYN (%)	66,5	8,07	62,4	7,9	4,1	0,93
NEU (%)	23,77	6,67	27,97	8,49	-4,19	0,95
MON (%)	2,15	1,51	1,79	0,94	0,37	0,80
EOS (%)	2,26	0,83	2,07	0,77	-0,09	0,64
BAS (%)	4,97	1,43	5,11	2,06	-0,13	0,58
PTL (x10 ³ /μL)	394	150	415	122	-21	0,67
Proteína C reactiva (μg/ml)	29,4	25,8	22,9	16,0	5,7	0,96
Cortisol (ng/ml)	0,82	0,21	0,65	0,14	0,16	1,00
<i>. Después de la vacunación</i>						
LYN (%)	65,4	9,96	68,5	8,45	-3,4	0,85
NEU (%)	23,9	8,46	22,1	8,68	2,0	0,75
MON (%)	3,86	1,93	1,79	1,33	1,71	1,00
EOS (%)	1,55	0,82	1,81	0,31	-0,16	0,76
BAS (%)	4,95	1,43	5,44	1,43	-0,28	0,72
Proteína C reactiva (μg/ml)	40,0	31,4	52,3	38,4	-13,7	0,91
Cortisol (ng/ml)	1,73	0,91	1,06	0,37	0,64	1,00

D_{H-L}: mediana de la diferencia entre las líneas de alta y baja variabilidad. P: Prob (D>0) cuando D>0 y Prob (D<0) cuando D<0. GR: glóbulos rojos. Hb: hemoglobina. GB: glóbulos blancos. LYN: linfocitos. NEU: neutrófilos. MON: monocitos. EOS: eosinófilos. BAS: basófilos. PLT: plaquetas.

EFFECT OF SELECTION FOR LITTER SIZE RESIDUAL VARIABILITY IN SENSIBILITY TO DISEASE AND STRESS

ABSTRACT: The objective of this study was to relate disease resistance and stress response with litter size variability. Disease resistance was measured by complete blood count and C reactive protein (CRP) before and after of vaccination with viral haemorrhagic disease and myxomatosis. Stress response was measured by cortisol levels before and after administration of ACTH. Does come from 8th generation of divergent selection experiment for litter size variability. A higher concentration of CRP (5.7μg/ml) and percentage of lymphocytes (-4.14), and a lower percentage of neutrophils (-4.19) was found in the high line. These results suggest that this line shows greater susceptibility to the common microorganisms in the microenvironment of the farm. After vaccination, the low line had faster and higher immune response than the high line. The cortisol levels were always higher in the high line than in the low one, before (0.16 ng/ml) and after (0.64 ng/ml) administration of ACTH. In conclusion, the susceptibility to get illness and to stress is associated to higher variability of litter size.

Keywords: Litter size variability, cortisol, C-reactive protein, resilience.