

**ASOCIACION  
INTERPROFESIONAL PARA EL  
DESARROLLO AGRARIO  
(AIDA)**

**XXXVII JORNADAS DE ESTUDIO**

**XI JORNADAS**

**SOBRE PRODUCCION ANIMAL**

11 y 12 de Mayo de 2005

Zaragoza

**TOMO I**

COLABORAN:

Gobierno de Aragón: Departamento de Ciencia, Tecnología y Universidad

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)

Caja de Ahorros de la Inmaculada (CAI)

Universidad de Zaragoza

Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA)

# ITEA

**Información Técnica Económica Agraria**  
**Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**

**SECRETARIA DE LAS JORNADAS:**

ISABEL CASASÚS PUEYO

**COORDINADORES DE SECCION:**

Genética: LUIS VARONA AGUADO

Patología Animal: M<sup>a</sup> JESÚS GRILLÓ DOLSET

Nutrición-Alimentación Animal: MARGALIDA JOY TORRENS

Sistemas Ganaderos-Economía y Gestión: ALBERTO BERNUÉS JAL

Calidad de los productos: BEGOÑA PANEA DOBLADO

Reproducción: ALBINA SANZ PASCUA

**Secretaría:** Mercedes Ferruz Andrés

Mayo 2005 Volumen Extra Número 26 tomo I	<b>DIRECCION Y REDACCION</b> Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 1130-6009 INO Reproducciones, S.A. 50013 Zaragoza
--	--	---

**Prohibida toda reproducción total o parcial sin autorización expresa de la  
Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**

**ITEA no se solidariza necesariamente con las opiniones en los artículos firmados  
que publica, cuya responsabilidad corresponde a los autores**

## PRÓLOGO

Una vez más, y son ya veinte años y once ediciones, sed bienvenidos a las Jornadas sobre Producción Animal organizadas por AIDA.

Como cada dos años, tendremos la ocasión de presentar y discutir los resultados más recientes de la investigación en producción animal, comentar proyectos actuales y futuros, y cómo no, reencontrar a los viejos amigos y conocer a los que asisten por primera vez a estas Jornadas. Tenemos que agradecer a los primeros su fidelidad y a los segundos su interés por la que, sin duda, es la más importante asamblea nacional de investigadores en los múltiples campos de la zootecnia.

En esta edición han presentado 288 comunicaciones, y se ha dado un relativo reequilibrio en los temas elegidos, ya que la mayoría de las secciones han tenido una contribución de trabajos similar. También se ha observado una cierta confluencia temática en las distintas secciones, lo cual es lógico desde un enfoque sistémico de la producción animal en el que no puede desligarse la base genética del manejo reproductivo, alimenticio y sanitario, el sistema de producción y la calidad final del producto. Esta circunstancia refuerza el valor de unas Jornadas que consiguen reunir en un mismo foro a investigadores que trabajan y se interesan por todos los aspectos de la producción animal.

En estas jornadas se han realizado también ciertos cambios con el objetivo de agilizar su funcionamiento: las sesiones se han condensado en dos días, se han programado sesiones de posters en las distintas secciones, y se han difundido los trabajos en formato digital. Se ha tratado también de realizar un relevo generacional en las personas implicadas en la organización, que han sido en su mayoría doctores contratados en el marco de los acuerdos entre INIA y las Comunidades Autónomas.

Queremos finalizar agradeciendo a todos los que de alguna manera han contribuido a llevar este barco a buen puerto. Muy especialmente, a los secretarios de las distintas secciones, que han realizado un trabajo magnífico a tiempo casi completo durante los tres últimos meses. También a los evaluadores y moderadores, por su buena disposición; a François Bocquier, por su amabilidad al aceptar nuestra invitación para presentar la ponencia inaugural; a Merche Ferruz, por su eficiencia y a todas aquellas personas e instituciones que de un modo u otro han colaborado en la financiación u organización. Y, por supuesto, a todos los que con sus trabajos y su asistencia contribuyen a mantener el buen nivel de estas Jornadas.

ISABEL CASASÚS PUEYO

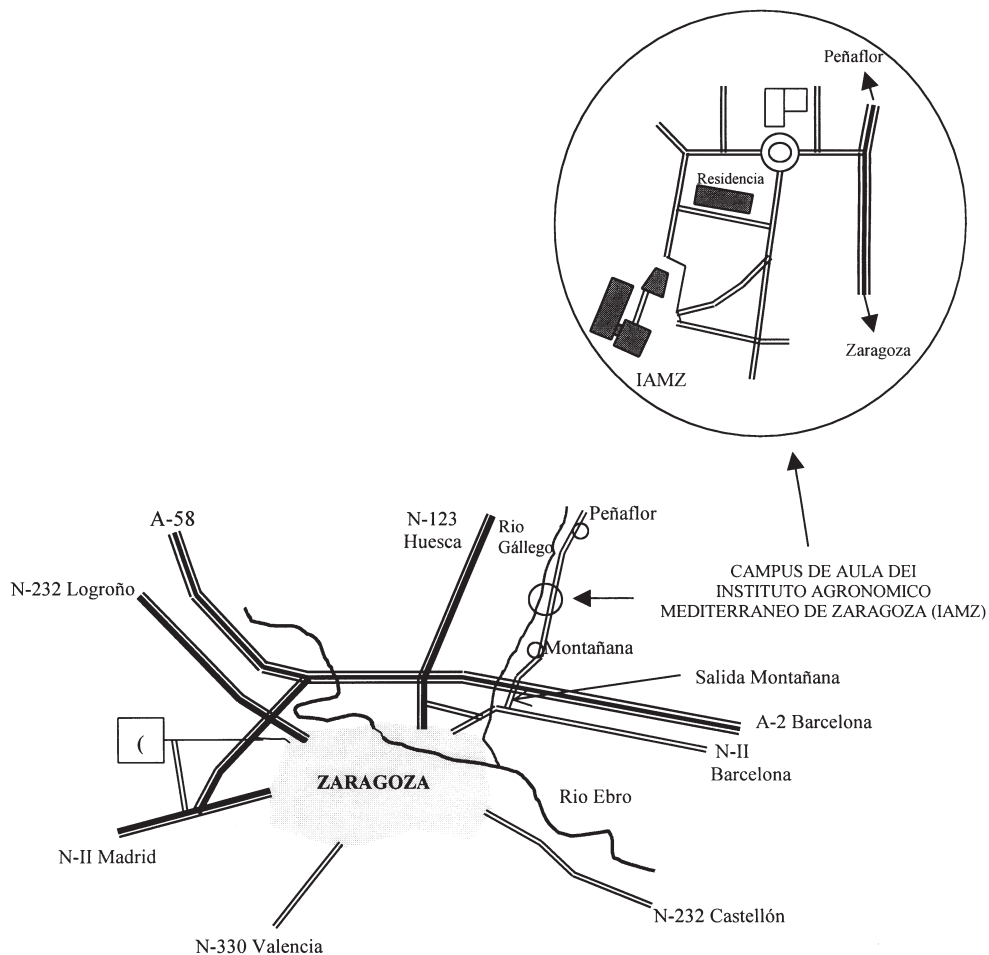
Secretaria de las XI Jornadas de Producción Animal



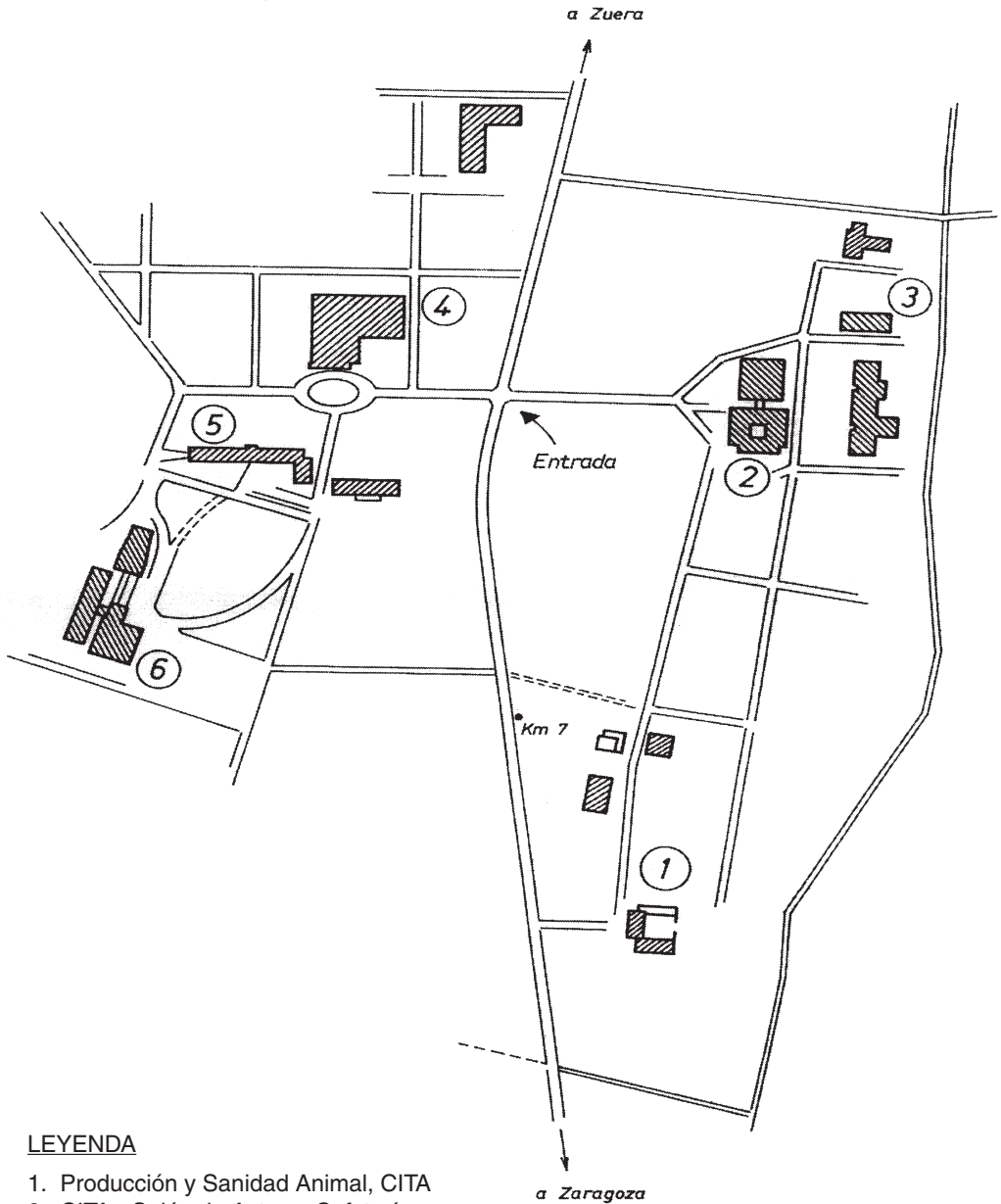
**CIHEAM - Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ)**  
Carretera de Montañana 1005, Apartado 202 - 50080 Zaragoza - España - Spain  
Tel.: +34 976 716000 – Fax: +34 976 716001 - e-mail: iamz@iamz.ciheam.org

## ACCESO AL INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

El Instituto se encuentra situado en el **Campus de Aula Dei**, a unos 15 kms del centro de la ciudad, en el km 7 de la carretera comarcal de Montañana a San Mateo. Para su acceso, si utiliza su propio vehículo, tome la Nacional II, o Autopista 2, dirección Lérida-Barcelona (dirección Zaragoza si viniera de Cataluña) y desvíese en la salida Montañana-Santa Isabel, atravesie la barriada de Montañana y aproximadamente a unos 4 kms encontrará a su derecha el indicador del “Campus” y en la rotonda encontrará el indicador **Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza CIHEAM**.



## CAMPUS de AULA DEI



### LEYENDA

1. Producción y Sanidad Animal, CITA
2. CITA - Salón de Actos y Cafetería.
3. Biblioteca CITA
4. EEAD - Salón de Actos y Cafetería.
5. Comedor.
6. I.A.M.Z. - Salón de Actos, Otras Salas.

## PROGRAMA XI JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL AIDA

**Miércoles, 11 de mayo de 2005**

**Mañana:**

	Genética	Patología	Nutrición - Alimentación	Sistemas - Economía	Calidad Productos	Reproducción
Lugar	Salón de Actos CITA	Seminario	AULA D	AULA C	Salón Actos IAMZ	AULA A (tarde) / Biblioteca Aula Dei (mañana)
09:00 - 10:30	<b>ENTREGA DE DOCUMENTACION INAUGURACION</b>					
	<b>CONFERENCIA INAUGURAL</b> "La pérennité et la durabilité des élevages de ruminants dépendent des capacités adaptatives des femelles", présentée par F. BOCCQUIER (coautores: F. Blanc, J. Agabriel, P. D'Hour, Y. Chilliard)					
10:30 - 11:00	<b>Café</b>					
11:00 - 13:00	Genética Molecular y Calidad de Carne en porcino (6c.) (Mod. R. Pena)	Enfermedades infecciosas (5c.) (Mod. M. J. Grilló)	No rumiantes I (6c) (Mod. E. Esteve)	Sist. Extensivos (12c.) (Mod. A. Olaizola)	Ovino (4c.) (Mod. B. Panea)	
13:00 - 14:30	QTL y Genes Candidatos (6c.) (Mod. J.J. Arranz)	12.00 Parasitología (4c.) (Mod. C. Calvete)	No rumiantes II (7c) (Mod. J. Batcellis)		12.00 Conejos (4c.) (Mod. M. López)	
14:30 - 15:30	<b>Comida</b>					
					13.00 Otros productos (4c.) (Mod. S. Martínez-Cerezo)	

**Miércoles, 11 de mayo de 2005**

**Tarde:**

	<b>Genética</b>	<b>Patología</b>	<b>Nutrición - Alimentación</b>	<b>Sistemas - Economía</b>	<b>Calidad Productos</b>	<b>Reproducción</b>
<i>Lugar</i>	Salón de Actos CITA	Seminario	AULA D	AULA C	Salón Actos IAMZ	AULA A (tarde) / Biblioteca Aula Dei (mañana)
15:30 - 16:30	Posters (13p.) (Genética Molecular)		Posters (15p.) No Rumiantes; Rumiantes: Fisiología y metabolismo	Sistemas vacuno (5c.) (Mod. R. Revilla)	Posters (13p.) Calidad Canal	Semen bovino, porcino, cunicola (5c.) (Mod. J. Yañiz)
16:30 - 17:00	<i>Pausa</i>					
17:00 - 18:00	Posters (11p.) (Genética Cuantitativa)		Discusión Posters (Mod. M. Fondevila)	Sist. Ovino-Caprino (9c.) (Mod. R. Ruiz)	Discusión Posters (Mod. C. Sañudo)	Semen ovino (8c.) (Mod. J.I. Martí)
18:00-19:00	Discusión Posters (Mod. M. Baselga)		Rumiantes: Fisiología y metabolismo (5c.) (Mod. A. de Vega)		Porcino (4c.) (Mod. J.L. Olleta)	
19:00 h	<b>Vino de AIDA</b>					



**Jueves, 12 de mayo de 2005**

**Mañana:**

	<b>Genética</b>	<b>Patología</b>	<b>Nutrición - Alimentación</b>	<b>Sistemas - Economía</b>	<b>Calidad Productos</b>	<b>Reproducción</b>
Lugar	Salón de Actos CITA	Seminario	AULA D	AULA C	Salón Actos IAMZ	AULA A (tarde) / Biblioteca Aula Dei (mañana)
09:00 - 10:30	Comun. Libres (4c.) (Mod. J. P. Gutierrez)		Rumiantes: Valoración nutritiva I (6c.) (Mod. S. Calsamiglia)		Nuevas Tecnologías Predicción Composición Canal y Carne (6c.) (Mod. A. Garrido)	
10:30 - 11:00	<b>Café</b>					
11:00 - 13:00	Vacuno, Ovino y Caprino (4c.) (Mod. M. J. Carabaño)		Rumiantes: Valoración nutritiva II (7c.) (Mod. M.D. Carro)	Sist. Monogástricos (13c.) (Mod. D. Villalba)	Alimentación y manejo de vacuno (7c.) (Mod. S. García)	Gametos, fecundación y embriones (9c.) (Mod. A. Garbayo)
13:00-14:30	12:30: Aplicaciones de Genética Molecular (6c) (Mod. M. Amills)		Rumiantes: Valoración nutritiva III (6c.) (Mod. B. de la Roza)		Cruzamiento industrial (5c.) (Mod. J.A. Mendizábal)	
14:30 - 15:30	<b>Comida</b>					

**Jueves, 12 de mayo de 2005**

**Tarde:**

	<b>Genética</b>	<b>Patología</b>	<b>Nutrición - Alimentación</b>	<b>Sistemas - Economía</b>	<b>Calidad Productos</b>	<b>Reproducción</b>
Lugar	Salón de Actos CITA	Seminario	AULA D	AULA C	Salón Actos IAMZ	AULA A (tarde) / Biblioteca Aula Dei (mañana)
15:30 -16:30	Conejos (4c) (Mod. E. Gomez)		Posters (15 p.) Valoración nutritiva y Producción	Posters (10p.) Identificación electrónica	Posters (11p.) Calidad Instrumental	Reproducción Bovina (4c.) (Mod. J.L. Alabart)
16:30 - 17:00	<i>Pausa</i>					
17:00 - 18:00	Análisis de Supervivencia (3c.) (Mod. C. Moreno)		Discusión Posters (Mod. G. Caja)	Discusión Posters (Mod. P. Albertí)	Discusión Posters (Mod. M. López)	Reproducción Pequeños Rumiantes, Conejos (6c.) (Mod. A. G. Bulnes)
18:00 - 19:00			Producción de rumiantes (5c.) (Mod. G. Hervás)	Bienestar animal (5c.) (Mod. J. Palacio)	Análisis instrumental (4c.) (Mod. A. Horcada)	
19:00 h	<b>Asamblea de AIDA</b>					

# ÍNDICE

## TOMO I

### GENÉTICA

#### Genética: Genética molecular y calidad de carne en porcino

- The SSH libraries: a new molecular tool to identify genes associated with production and reproduction traits in pigs.- Palin M.F., Beaundry D., Vallée, M. . . . . 3
- Efectos del gen *MC4R* sobre rendimiento en piezas nobles y calidad de carne en cerdos.- Ovilo C., Fernández A., Nieto M., Rodríguez C. . . . . 6
- Influencia de genes mitocondriales sobre el contenido de grasa intramuscular en cerdos Ibéricos.- Alves E., Fernández A., Ovilo C., De Pedro E., Rodríguez C., Silió L. . . . . 9
- Efecto del QTN del gen *IGF2* porcino en una población comercial Large White y en un cruce Ibérico x Landrace.- Estellé J., Mercadé A., Noguera J.L., Pérez-Enciso M., Óvilo C., Sánchez A., Folch J.M. . . . . 12
- Estudio de asociación del efecto del gen *FABP4* en un cruce entre Ibérico y Landrace.- Mercadé A., Pérez-Enciso M., Varona L., Alves E., Noguera J.L., Sánchez A., Folch J.M. . . . . 15
- Relación entre criterios de selección para el contenido y la composición de la grasa intramuscular en cerdos Duroc.- Bosch L., Tor M., Reixach, J., Estany, J. . . . . 18

#### Genética: QTL y genes candidatos

- Búsqueda de QTL con influencia sobre caracteres de morfología corporal en el cromosoma ovino 16\*.- Gutiérrez-Gil B., Arranz J.-J., El-Zarei M.-F., Rodríguez R., Bayón L.F., De La Fuente, San Primitivo F. . . . . 21
- Asociación de nuevos polimorfismos del gen ácido graso sintasa (FASN) con la cantidad de grasa por lactación en la especie vacuna.- Roy R., Ordovás L., Romero A., Moreno C., Zaragoza P., Altarriba J., Rodellar C. . . . . 24
- Caracterización de polimorfismos en el gen de la  $\beta$ -lactoglobulina caprina.- Ballester M., Sánchez A., Folch J.M. . . . . 27
- Estudio de las variantes alélicas de la  $\beta$ -lactoglobulina en la raza Merina y su relación con la producción Lechera.- Corral J.M., Izquierdo M., González J., Parejo J.C., Rabasco A., Martínez M., Sansinforiano E., Padilla J.A. . . . . 30
- Efecto del locus *CSN1S1* sobre la composición proteica y el recuento de células somáticas de la leche de cabra de raza Malagueña (Un análisis mediante modelos de regresión aleatoria).- Agüera P., Amills M., Aranda C., Menéndez-Buxadera A., Sánchez A., Serradilla J.M. . . . . 33
- Polimorfismo del exon 10 del receptor de la prolactina (PRLR) y efectos sobre caracteres de supervivencia de lechones en un cruce Ibérico x Meishan.- Tomás A., Casellas J., Ramírez O., Muñoz G., Pérez-Enciso M., Noguera J.L., Sánchez A. . . . . 36

#### Genética: Posters genética molecular

- Similitud genética en grupos de avestruces en la Amazonia Brasileña.- Costa M.R., Marques J.R.F., Ferreira S.F., León J.M., Delgado J.V. . . . . 39

- Efectos del gen PrP sobre caracteres productivos y reproductivos en la raza ovina Ripollesa.- Casellas J., Piedrafita J., Caja G., Bach R., Francino O. . . . .	42
- Generación de una genoteca de ADNc de oviducto de conejo y caracterización preliminar de ESTs.- Merchán M., Peiró R., Folch J.M. . . . .	45
- Análisis mitocondrial de poblaciones caprinas españolas y sudamericanas.- Amills M., Sánchez A., Capote J. . . . .	48
- Caracterización del gen de la malato deshidrogenasa ( <i>MDH1</i> ) porcino.- Vidal O., Noguera J.L., Sánchez A., Amills M. . . . .	51
- Asociaciones entre genotipo PrP y caracteres productivos en ovino lechero de raza Manchega y Lacaune: primeros resultados en prolificidad y peso al nacimiento.- Moussaoui Y., Caja G., Casellas J., Such X., Francino O. . . . .	54
- Asignación individual con un método de genotipos multilocus en bovinos.- Quiroz J., Martínez A., Martínez R.D., Armstrong E., Calderón J., Delgado J.V. . . . .	57
- Trazabilidad de la carne de vacuno mediante el análisis de 17 marcadores microsatélite de ADN.- Viana J.L., Bouzada J.A., Prado C., Areán H., Muiño R., López M., Fernández A. . . . .	60
- Caracterización molecular del gen de la acetil-CoA carboxilasa (ACACA) porcina.- Gallardo D., Gillet J., Ramírez O., Sánchez A., Amills M. . . . .	63
- Caracterización molecular del gen de la lipoprotein-lipasa (LPL) caprina.- Badaoui B., Serradilla J.M., Jordana J., Ares J.L., Falagán A., Carrizosa J., Urrutia B., Amills M. . . . .	66
- Análisis comparativo de genes de perdiz roja y chukar mediante caracterización por SNPS.- García C.B., Arruga M.V. . . . .	69
- Análisis preliminar de dos poblaciones de Poni Céltico de Asturias usando marcadores microsatélites.- Royo L.J., Álvarez I., Fernández I., Gutiérrez J.P., Martínez J.L., Gómez E., Goyache F. . . . .	72
- Frecuencias alélicas y genotípicas del gen prnp en la raza ovina Xalda de Asturias en relación con el color de la capa.- Álvarez I., Fernández I., Goyache F., Arranz J.J., Gutiérrez J.P., Gómez E., Royo L.J. . . . .	75
<b>Genética: Posters genética cuantitativa</b>	
- Razas avícolas portuguesas: contributo para la implantación de un programa de mejora animal.- Costa L., Leite J.V., Lopes J.C., Soares M., Brito N.V. . . . .	78
- Caracteres de productividad total, para dos intensidades reproductivas, en ovejas churras.- El-Saied U.M., De La Fuente L.F., Carriedo J.A., San Primitivo F. . . . .	81
- Selección divergente por capacidad uterina en conejo. Estimación de la respuesta con una población control criopreservada.- Mocé M.L., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. . . . .	84
- Selección por tasa de ovulación en conejo. Resultados preliminares.- Ibañez N., Martínez M., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. . . . .	87
- Análisis técnico-económico de ganaderías de razas Latxa y Manchega como paso previo al cálculo de pesos económicos.- Ramón M., Legarra A., Pérez-Guzmán M.D., Ugarte E. . . . .	90
- Asociación entre la condición del plumaje y los niveles de estrés en cinco razas de gallinas.- Gil M.G., Campo J.L., Torres O., Dávila S.G. . . . .	93

- Estimación de la heredabilidad del cociente heterófilos: linfocitos en gallinas ponedoras. Efectos de la edad, sexo, y cruzamiento.- Dávila S.G., Campo J.L. . . . . . 96
- Esquema de selección de la raza Assaf en León.- Jiménez M.A., Jurado J.J. . . . . . 99
- Análisis de la variabilidad genética de la raza Asnal Catalana a partir de su información genealógica.- Marmi J., Goyache F., Gutiérrez J.P., Jordana J. . . . . . 102
- Estudio de los efectos de dominancia en la determinación de la longevidad del conejo de carne.- Sánchez J.P., Baselga M., Korsgaard I.R. . . . . . 105
- Análisis genealógico del Poni de raza Asturcón en una situación de apertura parcial del libro genealógico.- Goyache F., Fernández I., Álvarez I., Gutiérrez J.P., Royo L.J. . . . . . 108

**Genética:** Comunicaciones libres

- MASSA: Análisis masivo de asociación mediante 'simulated annealing' (20 minutos).- Pérez-Enciso M. . . . . . 111
- Eficiencia de la utilización de marcadores en programas de conservación.- Fernández J., Villanueva B., Pong-Wong R., Toro M.A. . . . . . 114
- Hablemos de sexos.- Toro M.A., Fernández A., García-Cortés L.A., Rodríguez J., Silió L. . . . . . 117
- Asimetría fluctuante en caracteres sexuales secundarios: relación con indicadores de estrés en gallos de varias razas.- Campo J.L., Gil M.G., Dávila S.G., Muñoz I. . . . . . 120

**Genética:** Vacuno, ovino y caprino

- Estudio integral del carácter facilidad de parto en ganado vacuno Frison de la CAPv.- López de Maturana E., Legarra A., Ugarte E. . . . . . 123
- Comparación bayesiana de modelos para la evaluación del ganado caprino lechero de la raza Murciano-Granadina de la comunidad valenciana.- Grimal A., Sellas S., Gómez E.A., Martínez-Navalón B. . . . . . 126
- Obtención de pesos económicos para selección por rentabilidad.- Ramón M., Legarra A., Pérez-Guzmán M.D., Ugarte E. . . . . . 129
- Pesos económicos en ovino lechero en razas Latxa y Manchega.- Legarra A., Ramón M., Ugarte E., Pérez-Guzmán M.D. . . . . . 132

**Genética:** Aplicaciones de genética molecular

- Alta eficiencia de generación de animales de producción transgénicos mediante vectores lentivirales.- Pena R. . . . . . 135
- Consecuencias genéticas de los planes de erradicación de la EET en el esquema de selección de la raza ovina Manchega.- Smulders J.P., Serrano M. Pérez Guzmán, M.D. Jiménez M.A. Jurado, J.J. . . . . . 138
- Análisis de la asociación del gen PRNP con caracteres de producción de leche en la raza Churra.- Álvarez L., Arranz J.J., De La Fuente L.F., San Primitivo F. . . . . . 141
- Prolificidad y selección por genotipo *PrP* en raza aragonesa.- Ponz R., Tejedor M.T., Monteagudo L.V., Arruga M.V. . . . . . 144
- Aplicación de microsatélites en la identificación genética de reproductores y en el estudio de parentesco en poblaciones porcinas de selección de las razas Pietrain y Duroc.- Delgado R., Torrento N., Trilla N., Collell E., Ballester J., Tibau J. . . . . . 147

- Análisis mitocondrial del jabalí y de razas porcinas europeas, africanas y americanas.- Ramírez O., Tomás A., Clop A., Galman-Omitogun O., Marshall Makuza S., Cadillo J.M., Kelly L., Pérez-Enciso M., Amills M. . . . . 150

**Genética: Conejos**

- Estimación de la respuesta a la selección por tamaño de camada en conejo de carne evaluada en hembras cruzadas.- Baselga M., Sánchez J.P. . . . . 153
- Estudio del efecto de la selección divergente por capacidad uterina en conejo sobre el desarrollo embrionario a las 62 horas de gestación.- Peiró R., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. . . . . 156
- Resultados preliminares de la producción lechera en conejas F2 procedentes del cruce de dos líneas divergentes seleccionadas por su capacidad uterina.- Argente M<sup>a</sup>.J., Muelas R., Baena P.L., Rodríguez B., García Pardo M<sup>a</sup>.L. . . . . 159
- Composición de la canal y de la carne en conejos seleccionados por velocidad de crecimiento.- Pascual M., Aliaga S., Pla M. . . . . 162

**Genética: Análisis de supervivencia**

- Modelos semiparamétricos en el análisis de supervivencia aplicado a la mejora genética.- Sánchez J.P. . . . . 165
- Aproximaciones paramétricas al análisis de supervivencia mediante modelos de riesgos proporcionales.- Casellas J. . . . . 168
- Efecto de la condición corporal y de la selección por prolificidad sobre la longevidad de conejas reproductoras.- Theilgaard P., Sánchez J.P., Pascual J.J., Friggens N.C., Baselga M. . . . . 171

**SISTEMAS GANADEROS. ECONOMÍA Y GESTIÓN**

**Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Sistemas extensivos**

- La ganadería extensiva en las Islas Baleares. Distribución espacial y orientación productiva.- Rigo A., Joy S., Gullás J., Joy M., Ramon J., Cifre J. . . . . 177
- Evolución de los sistemas de vacuno de carne en el Pirineo Central (1990-2004): Resultados preliminares.- García A., Olaizola A., Riedel J.L., Bernués A. . . . . 180
- Los sistemas de vacuno de carne de las Sierras de la Rioja: I. Caracterización de las explotaciones.- Nieto M.I., Olaizola A.M., Manrique E. . . . . 183
- Los sistemas de vacuno de carne de las Sierras de la Rioja: II. Análisis económico del cambio de estrategia productiva.- Nieto M.I., Olaizola A.M., Manrique E. . . . . 186
- La ganadería ovina en el Parque de la Sierra y Cañones de Guara. 1. Intensificación reproductiva y manejo del pastoreo.- Riedel J.L., Casasús I., García A., Sanz A., Revilla R., Bernués A. . . . . 189
- La ganadería ovina en el Parque de la Sierra y Cañones de Guara. 2. Tipificación de las explotaciones.- Riedel J.L., Casasús I., García A., Sanz A., Revilla R., Bernués A. . . . . 192
- Caracterización de los principales sistemas de producción de ganado vacuno en el País Vasco.- Ruiz R., Igarzabal A., Mandaluniz N., Amenabar M., Oregui L.M. . . . . 195

- Pastoreo en el Parque Natural de Gorbeia: 1. Oferta y calidad forrajera.- Mandaluniz N., Igarzabal A., García A., Oregui L.M. . . . . .	198
- Pastoreo en el Parque Natural de Gorbeia: 2. Cargas ganaderas.- Mandaluniz N., Igarzabal A., Pérez de Arenaza A., Oregui L.M. . . . . .	201
- Desarrollo de un modelo de simulación de la dinámica de rebaño en sistemas extensivos de vacuno de carne.- Ruiz R., Villalba D., Bernués A. . . . . .	204
- Rendimientos productivos y reproductivos de ovejas y corderos de la raza Churra Tensina sometidos a diferentes alternativas de manejo en primavera.- Sanz A., Álvarez J., Balmisse E., Delfa R., Revilla R., Joy M. . . . . .	207
- Comportamiento en pastoreo de ovejas y corderos de la raza Churra Tensina sometidas a diferentes alternativas de manejo en primavera.- Álvarez J., Balmisse E., Delfa R., Joy M., Sanz A. . . . . .	210
<b>Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Sistemas vacuno</b>	
- Efecto del destete precoz sobre los rendimientos en el cebo de terneros producidos en condiciones de montaña.- Blanco M., Bernués A., Sanz A., Revilla R., Casasús I. . . . . .	213
- Cebo de terneros en praderas de alfalfa: efecto de distintas alternativas de manejo sobre los rendimientos.- Blanco M., Casasús I., Delgado I., Albertí P., Joy M. . . . . .	216
- Aplicación de un modelo de simulación de crecimiento a terneros en cebo de raza Parda de Montaña: resultados preliminares.- Bernués A., Ripoll G., Ruiz R., Casasús I., Villalba D. . . . . .	219
- Estudio de las curvas de crecimiento del ganado vacuno en los principales sistemas de producción del País Vasco.- Igarzabal A., Oregui L.M., Mandaluniz N., Amenabar M.E., Ruiz R. . . . . .	222
- Efectos de la intensificación en vacas de pasto sobre la producción y composición química de la leche.- Salcedo G., Arriaga H., del Prado A., Merino P. . . . . .	225
<b>Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Sistemas ovino-caprino</b>	
- Estudio del peso vivo de corderas de raza Churra durante la fase de crecimiento.- Rodríguez R., de la Fuente L.F., San Primitivo F. . . . . .	228
- Efecto del esquila invernal realizado al final de gestación sobre la ingestión en ovejas de raza Latxa.- Ruiz R., Arranz J., Beltrán de Heredia I., García A., Oregui L.M. . . . . .	231
- Productividad del ovino Criollo de la zona altoandina del Perú a diferentes períodos de cebo.- Carrasco Alarcón L.S. . . . . .	234
- Influencia de diversos factores sobre el peso final de comercialización del cabrito.- Caballero de la Calle J.R., Santos M.A., López Fuentes F. . . . . .	237
- Estudio de la adaptación del modelo de normalización Fleischman para la composición mineral de la leche de oveja Manchega.- Sánchez P.J., Ramón M., Pérez-Guzman M.D., Arias R., Vega O. . . . . .	240
- Efectos de la duración del secado sobre la producción de leche y los índices de muerte y proliferación celular en cabras lecheras.- Salama A.A.K., Caja G., Such X., Casals R., Albanell E. . . . . .	243
- Efectos de la gestación y la lactación extendida sobre la producción de leche en cabras Murciano-Granadinas.- Salama A.A.K., Caja G., Such X., Casals R., Albanell E. . . . . .	246
- Efectos de la alimentación antes de la pubertad sobre la vida productiva de ovejas lecheras de raza Manchega y Lacaune.- Zidi A., Ayadi M., Caja G., Such X., Ghirardi J.J., Albanell E. . . . . .	249

- Efectos de uno *versus* dos ordeños diarios sobre la producción y composición de leche de ovejas de raza Manchega y Lacaune.- Castillo V., Such X., Caja G., Casals R., Albanell E. . . . . 252

**Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Sistemas monogástricos**

- Análisis técnico-económico de explotaciones porcinas basado en simulaciones con hojas de cálculo.- Ezcurra X., Plà L.M. . . . . 255
- Evaluación técnica del dimensionamiento simulado de explotaciones porcinas.- Plà L.M., Babot D. . . . . 258
- Comparación de la productividad de la progenie de cerdas primerizas con la de cerdas múltiparas.- Piñeiro C., Piñeiro M., Morales J., Manteca X, Mateos G.G. . . . . 261
- Efecto del sexo, el peso al sacrificio y la línea paterna sobre la productividad de cruces Retinto Ibérico x Duroc en sistemas intensivos.- Serrano M.P., Valencia D.G., Fuentetaja A., Lázaro R., Mateos G.G. . . . . 264
- Efecto de la edad a la primera cubrición sobre la productividad global de cerdas reproductoras.- Aparicio M., Ramírez L.M., Ayllón S., Morales J., Piñeiro C. . . . . 267
- Análisis del crecimiento de lechones a diferentes edades de destete.- Caballero de la Calle J.R., Serrano A., López Fuentes F. . . . . 270
- Efecto del nivel de alimentación en la parte media de la gestación sobre el rendimiento de las cerdas nulíparas.- Cerisuelo A., Sala R., Carrión D., Coma J., Tibble S., Gasa J., Baucells M.D. . . . . 273
- Efecto de una restricción muy moderada de pienso durante el período de crecimiento sobre los resultados productivos de cerdos Large White x (Large White x Landrace).- Daza A., Rey A.I., López Bote C.J. . . . . 276
- Comparación de curvas de crecimiento de machos enteros, castrados y regenerados de la raza de gallinas Castellana Negra.- Miguel J.A., Asenjo B., Ciria J., Calvo J.L., Vitto R. . . . . 279
- Crecimiento y características de la canal de gallos alimentados con productos procedentes de la agricultura ecológica.- Muriel A., García Cuadrado N. . . . . 282
- Caracterización del crecimiento en una población de gallinas Menorca.- Villalba D., Francesch A., Pons A., Bustamante J., Espadas M., Santoja V., Cubiló D. . . . . 285
- Estudio de la productividad de la codorniz cinagética (Coturnix C. Cortunix) criada en cautividad.- Caballero de la Calle J.R., Peña J.C., López Fuentes F., Calle M.I. . . . . 288
- Efecto de la densidad en gazapos de engorde sobre su supervivencia y crecimiento. Resultados preliminares.- García M.L., Baena P.L., Muelas R., Anierte V., Argente M.J. . . . . 291

**Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Identificación electrónica**

- La identificación electrónica animal para gestión productiva en granjas de bovinos de leche.- Garin D., Pereira-Jaume T., Caja G. . . . . 294
- Retención de bolos ruminales para identificación electrónica en distintas razas de cabras españolas.- Capote J., Martín D., Castro N., Muñoz E., Lozano J., Carné S., Ghirardi J.J., Caja G. . . . . 297
- El mantenimiento del reflejo de la gotera esofágica y sus efectos en la identificación electrónica de cabritos de raza Murciano-Granadina: comparación de dos tipos de bolos e inyectables.- Carné S., Caja G., Ghirardi J.J. . . . . 300



- Efectos del tamaño y del lugar de inyección en la capacidad de lectura y migración de transpondedores para identificación electrónica en cerdos ibéricos.- Hernández-Jover M., Caja G., Alabern X., Garín D., Farriol B. . . . . 303
- Comparación de diferentes sistemas de identificación en la cría extensiva de cerdo ibérico, del destete hasta la evisceración.- Valdelvira J.J., Santamarina C., Averós X., Gosálvez M., Babot D. . . . . 306
- Comparación de crotales y transpondedores inyectables electrónicos full y half-duplex para evaluar la trazabilidad en porcino.- Santamarina C., Hernández-Jover M., Babot D., Caja G. . . . . 309
- Lectura dinámica de cerdos en crecimiento utilizando tecnología electrónica.- Babot D., Casaponsa J., Santamarina C., Hernández-Jover M., Gallardo J. . . . . 312
- Análisis económico de un sistema de lectura dinámica de identificadores electrónicos en una explotación porcina.- Casaponsa J., Babot D., Santamarina C. . . . . 315
- Análisis comparado de costes de la indentificación convencional y electrónica del bovino en España.- Saa C., Milán M.J., Caja G., Ghirardi J.J., San Miguel O, Ruiz A., Lueso M.J. . . . . 318
- Comparación del coste de la identificación convencional y electrónica del ovino y caprino en España.- Saa C., Milán M.J., Caja G., Ghirardi J.J. . . . . 321

**Sistemas ganaderos. Economía y gestión: Bienestar animal**

- Evaluación del bienestar animal en bovino lechero: la opinión de los expertos.- Casao A., María G.A. . . . . 324
- El test de velocidad de salida en la valoración del comportamiento en el ganado bovino.- Palacio J., Chacón G., García-Belenguer S., Sanz A., Casasús I. . . . . 327
- Evolución del temperamento en terneros del Macizo de la Albera.- Fina M., Casellas J., Manteca X., Piedrafita J. . . . . 330
- Efecto del sistema de alojamiento y alimentación sobre el bienestar y la productividad en cerdas gestantes.- Chapinal N., Ruiz de la Torre J.L., Baucells M.D., Gasa J., Manteca X. . . . . 333
- Efecto del tiempo de espera pre-sacrificio sobre algunos indicadores fisiológicos de bienestar animal en conejos comerciales.- María G., Chacón G., Liste G., Buil T., García-Belenguer S., Villarroel M., Alierta S. . . . . 336

## REPRODUCCIÓN

**Reproducción: Semen bovino, porcino y cunícola**

- Influencia de la raza y la edad en parámetros cinéticos de eyaculados bovinos.- Muiño R., Fernández M., Areán H., Viana J.L., Fernández A., Peña A.I. . . . . 341
- Cinética de la entrada de calcio en espermatozoides de verraco capacitados in vitro.- Sansegundo M., Matás C., Marín N.T., González A., Ruiz S. . . . . 344
- Alteración del sistema antioxidante durante el proceso de congelación de espermatozoides porcinos. Papel del Glutation.- Gadea J., Sellés E., Marco M.A., García-Vazquez F., Gardón J.C., Cánovas S., Gumbao D., Rodríguez J.A., Sansegundo M., Matás C., Romar R., Coy P. . . . . 347

- Características seminales de la raza de conejo gigante de España.- Mocé E., Lavara R., Marco-Jiménez F., Vicente J.S., López M. . . . . 350

**Reproducción: Semen ovino**

- Caracterización de una proteína del plasma seminal ovino con capacidad reparadora y protectora del daño por frío.- Fernández-Juan M., Acín S., Osada J., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. . . . . 353
- Análisis mediante electroforesis bidimensional de las proteínas del plasma seminal ovino de la raza Rasa Aragonesa.- Cardozo-Cerquera J.A., Vihás L., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. . . . . 356
- Inmunolocalización de proteínas fosforiladas en diferentes estados funcionales de espermatozoides ovinos.- Grasa P., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. . . . . 359
- Caracterización de *rafts* lipídicos en espermatozoide ovino. Análisis de marcadores proteicos y lipídicos.- Colás-Esteban C., Gallego M., Ollero M., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. . . . . 362
- Efecto del GM-CSF sobre la crioconservación de espermatozoides ovinos.- Flores E., Palomo M.J., Concha I., Rauch C., Rodríguez-Gil J.E. . . . . 365
- Efecto de la conservación de espermatozoides ovinos en medio semi-sólido (gel) a 15° sobre su capacidad de penetración de oocitos homólogos.- Yáñez J., Martí J.I., Silvestre M.A., Folch J., Santolaria P., Alabart J.L., López-Gatius F. . . . . 368
- Rendimiento sexual en moruecos de razas autóctonas aragonesas.- Quintín F.J., Sevilla E., Hernández M., Pastor F., Vijil E., Soguero J. . . . . 371
- Comportamiento sexual y rendimiento seminal en moruecos de raza Ansotana.- Quintín F.J., Sevilla E., Hernández M., Pastor F., Vijil E., Soguero J. . . . . 374

**Reproducción: Gametos, fecundación y embriones**

- La fertilidad en la transferencia de embriones ovina depende de la progesterona, tasa de ovulación y lateralidad de las ovulaciones de las receptoras.- Alabart J.L., Olivera J., Roche A., Cocero M.J., Sanchez P., Folch J. . . . . 377
- Efecto de un tratamiento de premaduración con roscovitina previo a la vitrificación de ovocitos de ternera en estadio de vesícula germinal rota sobre el posterior desarrollo embrionario.- Morató R., Albarracín J.L., Izquierdo D., Mogas T. . . . . 380
- Estudio de la expresión de P34cdc2 y ciclina B1 en diferentes tamaños de ovocitos de cabras prepúberes.- Anguita B., Jiménez-Macedo A.R., Izquierdo D., Paramio M.T. . . . . 383
- Interacción espermatozoide-zona pelúcida en la especie bovina: papel del ácido siálico y del enzima neuraminidasa.- Velasquez J.G., Barajas P., Marcos J., Jiménez-Movilla M., Gutiérrez-Gallego R., Ballesta J., Avilés M., Coy P. . . . . 386
- Utilización de ovocitos porcinos para la predicción de la fertilidad de espermatozoides humanos.- Cánovas S., García-Roselló E., Gómez E., Sellés E., Coy P. . . . . 389
- Producción in vitro de embriones caprinos mediante la técnica ICSI (Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides).- Jiménez-Macedo A.R., Anguita B., Izquierdo D., Paramio M.T. . . . . 392
- Producción in vitro de embriones porcinos transgénicos.- García-Vázquez F., García-Roselló E., Gumbao D., Gutiérrez-Adán A., Gadea J. . . . . 395
- Eficiencia de la recuperación 'in vivo' de embriones de conejo por laparoscopia.- Lavara R., Viudes de Castro M.P., Mehaisen G.M.K., Vicente J.S. . . . . 398

- Aplicación de la técnica de transferencia directa de embriones ovinos conservados mediante congelación clásica y vitrificación.- García-García R.M., Veiga-López A., Fuentes-López F., Peña J.C., Caballero de la Calle J.R., González-Bulnes A., Cocero M.J. .... 401
- Identificación de proteínas asociadas a la gestación (PAG) expresadas por conceptos de rumiantes domésticos antes de la implantación.- Serrano B., Aguilar B., López-Gatius F., Garbayo J.M. .... 404

**Reproducción:** Reproducción bovina

- Estudio de los principales indicadores reproductivos en bovinos lecheros en la región de entre Douro e Minho.- Dias M., Carvalheira J., Rocha A., Martins A., Brito N., Lopes J., Soares L. .... 407
- Fertilidad en vacas de raza Morucha: factores de variación.- Beltrán P., Álvarez Sánchez-Arjona S., Álvarez Sánchez-Arjona M.J. .... 410
- Utilización de espirales intravaginales en el control reproductivo de explotaciones de vacuno en zonas de montaña.- García Paloma J.A., Lombardía V., Martínez M.A., Suárez F. .... 413
- Nuevo tratamiento de inducción y sincronización ovulatoria que posibilita la concentración de parideras y la utilización práctica de la inseminación artificial en vacuno Retinto.- Hernández-García F.I., Ricos A.M. .... 416

**Reproducción:** Reproducción pequeños rumiantes y conejos

- La raza ovina Talaverana: estudio preliminar para su caracterización reproductiva.- Mateos J.J., Cerdeño A.I., Daza A. .... 419
- Efecto del tratamiento con FSHo y de la estación sobre el rendimiento de la foliculogénesis ovárica en cabras.- Alabart J.L., Roche A., Martí J.I., Aguilar B., Echegoyen E., Folch J. .... 422
- Efecto de la oxitocina sobre la profundidad de deposición del semen en la cabra Muriano-Granadina.- Viudes-de-Castro M.P., Salvador I., Silvestre M.A., Marco-Jiménez F., Bernacer J., Gómez E.A. .... 425
- Influencia de la inhibición de la secreción de la prolactina sobre el desarrollo del cuerno y la actividad testicular en el muflón.- Toledano-Díaz A., Santiago-Moreno J., Gómez-Brunet A., López-Sebastián A. .... 428
- Efecto de la edad de la coneja, número de cubrición y época de cubrición sobre la recuperación de embriones en raza Gigante de España.- López M., Forcada F. .... 431
- Efecto de diferentes métodos de sincronización de celo sobre las curvas de lactación en conejas multíparas.- Rebollar P.G., Burgos I., Lorenzo P.L. .... 434



<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Abecia L. ....	467, 500	Anguita M. ....	446, 449, 494
Acín S. ....	353	Aniorte V. ....	291
Adelantado C. ....	611	Aparicio D. ....	759
Agüera P. ....	33	Aparicio M. ....	267
Aguilar B. ....	404, 422	Arana A. ....	798
Alabart J.L. ....	368, 377, 422	Aranda C. ....	33
Alabern X. ....	303	Araújo O. ....	670
Albanell E. ....	243, 246, 249, 252, 557, 638, 656	Arcos M.L. ....	602
Albarracín J.L. ....	380	Areán H. ....	60, 341
Albertí P. ....	216, 717, 723, 726, 729, 768, 771, 774, 792, 795, 798, 801, 804, 837	Ares J.L. ....	66
Alcalde M.J. ....	846	Argamenteria A. ....	560, 650, 659
Alfonso I.M. ....	810	Argente M.J. ....	159, 291
Aliaga S. ....	162, 807	Argüello A. ....	521
Alierta S. ....	336	Arias R. ....	240, 691
Altarriba J. ....	24	Armstrong E. ....	57
Álvarez I. ....	72, 75, 108, 667	Arranz J. ....	231
Álvarez J. ....	207, 210	Arranz J.J. ....	21, 75, 141
Álvarez L. ....	141	Arriaga H. ....	225, 653
Álvarez Sánchez-Arjona M.J. ....	410	Arroyo J.M <sup>a</sup> . ....	542
Álvarez Sánchez-Arjona S. ....	410	Arruga M.V. ....	69, 144
Álvarez V. ....	858	Asenjo B. ....	279, 732, 735, 738
Alves E. ....	9, 15	Astillero J.R. ....	488
Alvir M.R. ....	542, 581, 626	Auclair E. ....	470
Alzón M. ....	795, 798	Averós X. ....	306
Amenabar M. ....	195	Avilés M. ....	386
Amenabar M.E. ....	222	Ayadi M. ....	249
Amills M. ....	33, 48, 51, 63, 66, 150	Ayllón S. ....	267
Amorena B. ....	855, 858, 861	Babot D. ....	258, 306, 309, 312, 315
Andrea N. ....	470	Bach A. ....	533, 554, 611, 644
Andrés S. ....	762, 858	Bach R. ....	42
Andresdóttir V. ....	861	Badaoui B. ....	66
Andueza D. ....	596	Badiola I. ....	506
Anguita B. ....	383, 392	Baena P.L. ....	159, 291
		Bahamonde A. ....	768
		Balcells J. ....	467, 500
		Balmisse E. ....	207, 210
		Ballesta J. ....	386
		Ballester J. ....	147
		Ballester M. ....	27

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Barajas P. ....	386	Brufau J. ....	443, 470, 479, 482, 506
Baselga M. ....	105, 153, 171	Buil T. ....	336, 682, 685
Baucells M.D. ....	273, 333	Burgos I. ....	434
Baumont R. ....	596	Busqué J. ....	539
Bautista J. ....	593	Busquet M. ....	572
Bautista J.M. ....	476	Bustamante J. ....	285
Bayón Y. ....	21	Caballero de la Calle J.R. 237, 270, 288, 401	
Beaundry D. ....	3	Cadillo J.M. ....	150
Béchet G. ....	596	Caja G. ....	42, 54, 243, 246, 249, 252, 294, 297, 300, 303, 309, 318, 321, 518, 521, 536, 557, 638, 656
Beever D.E. ....	694	Calderon J. ....	57
Belanche A. ....	467	Calsamiglia S. ....	524, 527, 569, 578, 617, 623, 653
Belenguer A. ....	467	Calvete C. ....	867
Beltrán de Heredia I. ....	231	Calvo J.L. ....	279
Beltrán J.A. ....	703	Calvo M.A. ....	611
Beltrán P. ....	410	Calle M.I. ....	288
Bello J.M. ....	703	Campo J.L. ....	93, 96, 120
Benavides J. ....	855	Campo M.M. ....	685, 703, 723, 726, 786, 789
Beriain M.J. ....	792, 819	Campos M.I. ....	632, 759
Bernacer J. ....	425	Cánovas S. ....	347, 389
Bernués A. ....	180, 189, 192, 204, 213, 219	Cañeque V. ....	667
Berriatua E. ....	858	Capote J. ....	48, 297, 521
Biescas E. ....	855, 858, 861	Carabaño R. ....	458, 461, 497
Biglia C. ....	464	Carballo J.A. ....	712, 720, 834
Biglia S. ....	602	Cardozo P.W. ....	617
Blanco M. ....	213, 216, 771, 774	Cardozo-Cerquera J.A. 356	
Blanco T. ....	777, 816	Carillho M.C. ....	688
Blas E. ....	464	Carné S. ....	297, 300
Blasco A. ....	84, 87, 156	Carrasco Alarcón L.S. ...234	
Blasco J.M. ....	864	Carriedo J.A. ....	81
Blázquez B. ....	822, 843	Carrión D. ....	273
Bodas R. ....	512	Carrizosa J. ....	66
Bolet G. ....	688		
Borrás D. ....	867		
Bosch L. ....	18, 753		
Bouattour M.A. ....	557, 638, 656		
Boukhalat W. ....	700		
Bouzada J.A. ....	60		
Bravo H. ....	813		
Brito N.V. ....	78, 407, 810		

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Carro M.D.....	509, 551, 572, 575, 584, 587, 608, 620	Costa M.R. ....	39
Carvalho J. ....	407	Coy P. ....	347, 386, 389
Casado C. ....	602	Crespo H. ....	855
Casals R. ....	243, 246, 252, 557, 638, 656	Cubiló D. ....	285
Casamiglia S. ....	572	Cueto M.A. ....	560
Casao A. ....	324	Chacón G. ....	327, 336
Casaponsa J. ....	312, 315	Chamorro S. ....	461, 679
Casasús I. ....	189, 192, 213, 216, 219, 327, 771, 774	Chapinal N. ....	333
Casellas J. ....	36, 42, 54, 168, 327, 518, 536	Christensen M. ....	717, 723, 726
Castillejos L. ....	569	Daltabuit M. ....	858
Castillo M. ....	446, 449	Dávila S.G. ....	93, 96, 120
Castillo V. ....	252	Daza A. ....	276, 419, 741, 744, 756
Castrillo C. ....	548	De Andrés D. ....	855, 858, 861
Castro N. ....	297, 521	De Andrés X. ....	855, 858, 861
Castro T. ....	647, 662	De Blas C. ....	458, 679
Cebrián-Pérez J.A. ....	353, 356, 359, 362	De la Fuente J. ....	667
Cerdeño A.I. ....	419, 870	De La Fuente L.F. ....	21, 81, 141, 228
Cerisuelo A. ....	273	De la Roza B. ....	590, 650
Cerrato M. ....	578, 623	De Miguel M.J. ....	864
Cervera C. ....	464	De Pedro E. ....	9, 709, 759
Cifre J. ....	177, 279	De Vega A. ....	515
Ciria J. ....	732, 735, 738, 780, 813	Dehority B.A. ....	614
Climent A. ....	84, 87, 156	Del Cacho E. ....	506
Clop A. ....	150	Del Moral J. ....	816
Cocero M.J. ....	377, 401	Del Pico D. ....	828
Colás-Esteban C. ....	362	Del Prado A. ....	225
Colmenarez D. ....	780	Delfa R. ....	207, 210, 729
Collell E. ....	147	Delgado A. ....	735, 738
Coma J. ....	273	Delgado I. ....	216
Concha I. ....	365	Delgado J.V. ....	39, 57
Corral J.M. ....	30	Delgado R. ....	147
Correa F. ....	670	Devant M. ....	533, 554, 611, 644
Costa J. ....	670	Dias M. ....	407
Costa L. ....	78	Díaz E. ....	709
		Díaz M.T. ....	667, 706
		Díaz T.E. ....	602
		Díez A. ....	476
		Díez J. ....	768
		Ducatelle R. ....	470

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Durán P.....	455
Echegoyen E. ....	422
Eiras P. ....	461
El-Saied U.M. ....	81
El-Zarei M.-F.....	21
Entrocasso C.....	873
Ertbjerg P.....	717, 723, 726
Escribano F. ....	479
Espadas M. ....	285
Espejo M. ....	777, 783
Estany J. ....	18, 753
Estellé J.....	12
Esteve-García E. ....	455
Esteves R. ....	670, 825
Estrada R. ....	867
Ezcurra X. ....	255
Failla S. ....	717, 723, 726
Falagán A.....	66
Farriol B.....	303
Fernández A.....	6, 9, 60, 117, 341, 858
Fernández B.....	512, 530, 539
Fernández E.....	635
Fernández I. ....	72, 75, 108, 709, 768
Fernández J. ....	114
Fernández M. ....	341, 563, 566
Fernández V.M. ....	759
Fernández-Juan M. ....	353
Ferreira S.F.....	39
Ferret A. ....	524, 527, 569, 572, 578, 617, 623
Fiel C.....	873
Fina M. ....	327
Flores C.....	536
Flores E.....	365
Flores L. ....	485
Folch J.....	368, 377, 422
Folch J.M.....	12, 15, 27, 45
Fondevila M.....	467, 491, 500, 548

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Forcada F. ....	431
Francesch A. ....	285
Francesch M. ....	470, 506
Francino O.....	42, 54
Frehner M.....	566
Friggens N.C. ....	171
Frutos P. ....	530, 539
Fuentes-López F. ....	401
Fuentetaja A.....	264
Gaddini A. ....	717, 723, 726
Gadea J.....	347, 395
Galman-Omitogun O. ...	150
Gallardo D. ....	63
Gallardo J.....	312
Gallego M.....	362
Gallego R. ....	691
Gañarull C.....	688
Garbayo J.M.....	404
García A.....	180, 189, 192, 198, 231
García A.I.....	497
García C.B. ....	69
García F.....	470
García J.....	458, 461
García J.M.....	867
García M. ....	485
García M.L. ....	159, 291
García N.....	282
García Paloma J.A. ....	413
García S. ....	777, 783, 816
García-Belenguer S. ....	327, 336
García-Cachán M.D. ....	706, 750
García-Cortés L.A. ....	117
García-García R.M.....	401
García-González R. ....	563, 566, 614
García-Martín M.A. ....	673
García-Olmo J. ....	759
García-Rebollar P.....	434, 461, 679
García-Regueiro J.A. ...	644
García-Roselló E.....	389, 395
García-Vázquez F.A. ....	347, 395
Gardón J.C. ....	347



<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Garín D.....	294, 303, 518
Garrido-Varo A. ....	590, 593, 629, 632, 635, 759
Gasa J.....	273, 333, 446, 449, 494
Ghirardi J.J. ....	249, 297, 300, 318, 321, 518, 536
Gigli S.....	717, 723, 726
Gil M.G. ....	93, 120
Gillet J. ....	63
Giráldez F.J. ....	512, 530, 762
Giraldo L.A. ....	551, 584
Glaría I. ....	858, 861
Gómez A. ....	635, 709
Gómez E. ....	72, 75, 389, 485
Gómez E.A.....	126, 425
Gómez G.....	479
Gómez J.A. ....	620
Gómez-Brunet A. ....	428
Gómez-Cabrera A. ....	590, 632
Gómez-Conde M.S. ....	461, 679, 876
Gómez-Rincón C.....	879
Goñalves M. ....	670
González A. ....	344
González E. ....	638
González J. ....	30, 542, 581, 626
González J.S.....	509, 563, 566
González L. ....	524, 527, 662
González-Alvarado J.M.	473, 503
González-Bulnes A. ....	401
González-Fernández C.	747, 750
Goñi M.V.....	819
Gosálvez M. ....	306
Goyache F. ....	72, 75, 102, 108, 768
Grandison A.S.....	694
Grasa P.....	359
Grimal A. ....	126
Grinari J.M.....	694
Guada J.A. ....	515, 545

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Guerrero J.E.....	590, 593, 629, 632, 635
Gulías J. ....	177
Gumbao D. ....	347, 395
Gutiérrez J.P.....	72, 75, 102, 108
Gutiérrez-Adán A. ....	395
Gutiérrez-Gallego R. ....	386
Gutiérrez-Gil B. ....	21
Haba M <sup>a</sup> J. de la.....	629
Harkiss G.D.....	855
Heijden S. Van der.....	446
Hernández M. ....	371, 374
Hernández P.....	697
Hernández-García F.I...	416
Hernández-Jover M.....	303, 309, 312, 536
Herrero B.....	813
Hervás G.....	539, 694
Hocquette J.F. ....	717, 723, 726
Horcada A. ....	846
Ibañez N.....	87
Igarzabal A.....	195, 198, 201, 222
Iglesias C. ....	554, 611
Indurain G. ....	792, 819, 846
Insausti K. ....	792, 819
Izquierdo D.....	380, 383, 392
Izquierdo M. ....	30, 777, 783
Jailler R. ....	723, 726
Jaime I.....	747
Jardim R.....	670
Jiménez M.A. ....	99, 138
Jiménez-Macedo A.R....	383, 392
Jiménez-Moreno E. ....	473, 503
Jiménez-Movilla M. ....	386
Jimeno V.....	647, 662
Jones A.K.....	694
Jordana J. ....	66, 102
Joy M.....	177, 207, 210, 216, 771
Joy S. ....	177
Jurado J.J.....	99, 138

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Kamel C. ....	572, 617	Llauradó L. ....	443
Keli A. ....	515, 545, 596	Llorente A. ....	497
Kelly L. ....	150	Mach N. ....	533
Korsgaard I.R. ....	105	Manazza J. ....	873
Lahoz F. ....	729, 768, 795	Mandaluniz N. ....	195, 198, 201, 222
Lauzurica S. ....	667	Manrique E. ....	183, 186
Lavara R. ....	350, 398	Manso T. ....	647, 662
Lavín P. ....	762	Manteca X. ....	261, 327, 333, 524, 527
Lázaro L. ....	873	Mantecón A.R. ....	512, 530, 539, 647, 662, 762
Lázaro R. ....	264, 452, 473, 488, 503, 828	Manzanilla E.G. ....	491, 494
Legarra A. ....	90, 123, 129, 132, 765	Marbán A. ....	650
Leite J.V. ....	78	Marco M.A. ....	347
Lendoiro J. ....	712, 720	Marco-Jiménez F. ....	350, 425
León J.M. ....	39	Marcos J. ....	386
Liste G. ....	336, 682, 685	Margalef J. ....	771
Lizardo R. ....	443, 455, 479, 482	María G.A. ....	324, 336, 682, 685
Lombardía V. ....	413	Marín C.M. ....	864
Lopes J. ....	407	Marín N.T. ....	344
Lopes J.C. ....	78, 810	Marmi J. ....	102
López de Maturana E. ....	123	Marques J.R.F. ....	39
López Fuentes F. ....	237, 270, 288	Marshall Makuza S. ....	150
López M. ....	60, 350, 431, 682, 685, 688	Martí J.I. ....	368, 422
López M.M. ....	777, 783, 816	Martín A.I. ....	608
López S. ....	509, 563, 566, 587, 614	Martín D. ....	297, 521
López-Bote C.J. ....	276, 476, 679, 741, 744, 756	Martín P. ....	870
López-Campos O. ....	530, 539	Martínez A. ....	57
López-Gatius F. ....	368, 404	Martínez B. ....	706, 747, 750
López-Sebastián A. ....	428	Martínez J.L. ....	72
Lorenzo E. ....	831	Martínez M. ....	30, 87
Lorenzo P.L. ....	434	Martínez M.A. ....	413
Lozano J. ....	297	Martínez R.D. ....	57
Lucas N. ....	861	Martínez-Navalón B. ....	126
Lucientes J. ....	867	Martín-Orúe S.M. ....	446, 449, 491, 494
Lueso M.J. ....	318	Martín-Peláez S. ....	491, 494
Luján L. ....	855, 858, 861	Martins A. ....	407
Lupoli B. ....	694	Matás C. ....	344, 347
		Mateos A. ....	756

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Mateos G.G.....	261, 264, 452, 473, 488, 503, 828, 831	Moussaoui Y. ....	54
Mateos J.J. ....	419, 870	Muela E. ....	801, 837
Maza M.T.....	700	Muelas R. ....	159, 291
McEwan N.R. ....	500	Muiño R. ....	60, 341
Medel P. ....	831	Muiño-Blanco T.....	353, 356, 359, 362
Mehaisen G.M.K. ....	398	Muñoz E. ....	297
Meléndez S. ....	732, 780	Muñoz G. ....	36
Mendizábal J.A.....	765, 798	Muñoz I. ....	120
Mendonça G. ....	825	Muñoz P.M.....	864
Menéndez-Buxadera A.33		Muñoz T.....	870
Menoyo D. ....	476, 679	Muriel A. ....	282
Mercadé A. ....	12, 15	Nicodemus N.....	458, 497
Merchán M. ....	45	Nieto M. ....	6
Merino P. ....	225, 653	Nieto M.I.....	183, 186
Mick V.....	855	Noguera J.L.....	12, 15, 36, 51
Miguel E. ....	822, 843	Núñez N. ....	759
Miguel J.A. ....	279, 732, 735, 738	Nute G.R. ....	717, 723, 726
Milán M.J.....	318, 321	Obach A. ....	476
Mingoarranz F.J.....	747	Olaizola A.M.....	180, 183, 186
Miranda M.A.....	867	Oliveira C.....	810
Mocé E. ....	350	Oliveira M. ....	670
Mocé M.L. ....	84	Olivera J.M. ....	377
Mogas T.....	380	Olmeda A.S.....	870
Molina A. ....	846	Olmos G.....	545
Molina Alcaide E. ....	608	Ollero M. ....	362
Molinero C. ....	750	Olleta J.L. ....	682, 685, 717, 723, 726, 768, 786, 789, 801, 804, 837
Monserrat L.....	834, 849	Ordovás L.....	24
Monsón F.....	703, 715, 717, 723, 726, 840	Oregui L.M. ....	195, 198, 201, 222, 231
Monteagudo L.V. ....	144	Osada J. ....	353
Mora M.J. ....	539	Osório J.C. ....	670, 825
Morales J.....	261, 267, 831	Osório M. ....	670, 825
Morales R.....	470	Quarti M. ....	542, 581, 626
Mora-Pulido V.....	506	Ovejero I.....	756
Morató R. ....	380	Ovilo C. ....	6, 9, 12
Moreno C. ....	24	Padilla J.A. ....	30
Moreno N. ....	867	Palacio J.....	327
Moreno P. ....	709	Palin M.F.....	3
Moreno T. ....	834, 849		
Mota M. ....	548		

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Palomo M.J. ....	365	Plà L.M. ....	255, 258
Panea B. ....	717, 723, 726, 768, 801, 804, 837	Pla M. ....	162, 807
Paramio M.T. ....	383, 392	Pong-Wong R. ....	114
Pardos J.J. ....	717	Pons A. ....	285
Paredes E. ....	650	Ponz R. ....	144
Parejo J.C. ....	30	Portela C. ....	849
Pargas H. ....	780	Pradié J. ....	825
Partida J.A. ....	786, 789	Prado C. ....	60
Pascual J.J. ....	171, 602	Prieto N. ....	762
Pascual M. ....	162, 807	Puigvert X. ....	753
Pastor F. ....	371, 374	Pulgar A. ....	662
Peiró R. ....	45, 156	Purroy A. ....	765, 792, 798
Peláez M. ....	659	Quintín F.J. ....	371, 374
Pellitero M.A. ....	509	Quiroz J. ....	57
Pena R. ....	135	Rabasco A. ....	30
Peña A.I. ....	341	Ràfols N. ....	554
Peña J.C. ....	288, 401	Ramírez L.M. ....	267
Pereira-Jaume T. ....	294	Ramírez O. ....	36, 63, 150
Pérez Alba L. ....	458	Ramírez R. ....	813
Pérez C. ....	667	Ramon J. ....	177
Pérez D. ....	759	Ramón M. ....	90, 129, 132, 240, 691
Pérez de Arenaza A. ....	201	Ranilla M.J. ....	551, 575, 584, 587, 608
Pérez de la Lastra J.M. ....	855, 858	Rauch C. ....	365
Pérez de Villarreal M. ....	855	Redondo R. ....	458
Pérez J.F. ....	446, 449, 491, 494	Reina R. ....	855, 858, 861
Pérez M.M. ....	858, 861	Reixach J. ....	18, 753
Pérez N. ....	834, 849	Revilla I. ....	673, 676
Pérez V. ....	855	Revilla R. ....	189, 192, 207, 213
Pérez-Enciso M. ....	12, 15, 36, 111, 150	Rey A.I. ....	276, 741, 744, 756
Pérez-Guzmán M.D. ....	90, 129, 132, 138, 240, 691	Reynolds C.K. ....	694
Pérez-Marín D. ....	590, 593, 629, 632, 635	Ricos A.M. ....	416
Piedrafita J. ....	42, 327	Riedel J.L. ....	180, 189, 192
Pinto M. ....	653	Rigo A. ....	177
Piñeiro C. ....	261, 267, 831	Ripoll G. ....	219, 717, 729, 768, 771, 774, 795, 801, 804, 837
Piñeiro M. ....	261	Robles A. ....	777
Piquer O. ....	602	Robles V. ....	524

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Rocha A. ....	407, 825
Roche A. ....	377, 422
Rodellar C. ....	24
Rodrigáñez J. ....	117
Rodríguez A. ....	485, 747
Rodríguez A.B. ....	512, 563, 566
Rodríguez B. ....	159
Rodríguez C. ....	6, 9
Rodríguez C.A. ....	542, 581, 626
Rodríguez I. ....	792
Rodríguez J.A. ....	347
Rodríguez M.L. ....	650, 659
Rodríguez R. ....	21, 228
Rodríguez-Gil J.E. ....	365
Rodríguez-López G. ....	676
Rojo-Vázquez F.A. ....	870
Romar R. ....	347
Romero A. ....	24
Rosati S. ....	855
Rosell M <sup>a</sup> . ....	653
Rota E. ....	670, 825
Rovira J. ....	747
Roy R. ....	24
Royo L.J. ....	72, 75, 108
Roza B. de la. ....	560, 659
Rubio B. ....	747, 750
Ruiz A. ....	318
Ruiz de Huidobro F. ....	822, 843
Ruiz de la Torre J.L. ....	333
Ruiz R. ....	195, 204, 219, 222, 231
Ruiz S. ....	344, 347
Saa C. ....	318, 321
Sala R. ....	273
Salama A.A.K. ....	243, 246
Salcedo G. ....	225, 599, 641
Salvador I. ....	425
San Miguel O. ....	318
San Primitivo F. ....	21, 81, 141, 228
Sánchez A. ....	12, 15, 27, 33, 36, 48, 51, 63

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Sánchez J.P. ....	105, 153, 165, 171
Sánchez L. ....	709, 834
Sánchez P. ....	377
Sánchez P.J. ....	240
Sansegundo M. ....	344, 347
Sansinforiano E. ....	30
Santacreu M.A. ....	84, 87, 156
Santamarina C. ....	306, 309, 312, 315
Santiago-Moreno J. ....	428
Santoja V. ....	285
Santolaria P. ....	368
Santos D. ....	810
Santos M.A. ....	237
Sanz A. ....	189, 192, 207, 210, 213, 327
Sanz E. ....	485
Sañudo C. ....	682, 685, 703, 715, 717, 723, 726, 768, 786, 789, 801, 804, 837, 840
Sarriés M.V. ....	819
Sellas S. ....	126, 347, 389
Serradilla J.M. ....	33, 66
Serrano A. ....	270
Serrano B. ....	404
Serrano M. ....	138
Serrano M.P. ....	264, 452, 828
Sevilla E. ....	371, 374
Shingfield K.J. ....	694
Sierra I. ....	715, 840
Silió L. ....	9, 117
Silvestre M.A. ....	368, 425
Smulders J.P. ....	138
Soares M.L. ....	78, 407, 810
Soguero J. ....	371, 374
Solanas E. ....	467, 548
Solano C. ....	861
Soldado A. ....	590
Soler M.D. ....	464

<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>	<b>AUTORES</b>	<b>Páginas</b>
Soret B. ....	798	Valera M. ....	846
Suárez F. ....	413	Valiente O.L. ....	515
Such X. ....	54, 243, 246, 249, 252, 557, 638, 656	Vallée M. ....	3
Tejedor M.T. ....	144	Van Immerseel F. ....	470
Tejerina D. ....	816	Varona L. ....	15, 697
Tejido M.L. ....	551, 575, 584, 587, 620	Vega A. de ....	545, 596
Theilgaard P. ....	171	Vega O. ....	240
Tibau J. ....	147	Veiga-López A. ....	401
Tibble S. ....	273	Velasco S. ....	822, 843
Toledano-Díaz A. ....	428	Velasquez J.G. ....	386
Tomás A. ....	36, 150	Viana J.L. ....	60, 341
Tor M. ....	18, 753	Vicente B. ....	488
Toro M.A. ....	114, 117	Vicente F. ....	560, 650, 659
Torrallardona D. ....	443, 482	Vicente J.S. ....	350, 398
Torre J.L. de la. ....	527	Vidal O. ....	51
Torrento N. ....	147	Vieira C. ....	706
Torres O. ....	93	Vihás L. ....	356
Trilla N. ....	147	Vijil E. ....	371, 374
Ugarte E. ....	90, 123, 129, 132	Villalba D. ....	204, 219, 285, 753
Uriarte J. ....	876, 879	Villamide M.J. ....	497
Urrutia B. ....	66	Villanueva B. ....	114
Valcárcel F. ....	870	Villarroel M. ....	336, 682, 685
Valdelvira J.J. ....	306	Vitto R. ....	279, 735, 738
Valderrábano J. ....	876, 879	Viudes de Castro M.P. ....	398, 425
Valdés C. ....	509	Vivar-Quintana A.M. ....	673, 676
Valencia D.G. ....	264, 452, 488, 828	Williams J.L. ....	717, 723, 726
		Yániz J. ....	368
		Zaragoza P. ....	24
		Zidi A. ....	249

# *Genética*





## THE SSH LIBRARIES: A NEW MOLECULAR TOOL TO IDENTIFY GENES ASSOCIATED WITH PRODUCTION AND REPRODUCTION TRAITS IN PIGS

M.F. Palin<sup>1</sup>, D. Beaudry<sup>1</sup>, M. Vallée<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agriculture and Agri-Food Canada, Lennoxville, Québec, Canada

<sup>2</sup>Department of Animal Sciences, Laval U., Québec city, Québec, Canada

### Introduction

In the last decade, considerable progress was made to unravel the pig genome. The pig genetic map now has more than 4000 loci of which 1588 are designated as genes ([www.thearkdb.org/browser?species=pig](http://www.thearkdb.org/browser?species=pig)). More recently, gene transcription profiling techniques were also developed to fully understand the physiological complexity of the pig transcriptome (i.e. complete set of mRNA molecules present in a cell, tissue or organ). These new techniques have the potential to illuminate the molecular processes that govern phenotypic characteristics of porcine production and reproduction traits (Whitworth *et al.*, 2005). Among these new techniques, the suppressive subtractive hybridization (SSH) allows the identification of differentially expressed genes between two types of cells or tissues (Diatchenko *et al.*, 1996). Results obtained from 2 research projects in which the SSH technique was used are presented herein. The first example concerns the identification of genes involved in embryo survival (Project 1), whereas the second example shows how the SSH technique allowed us to identify genes associated with swine muscle steatosis (i.e. abnormal fat infiltration in ham muscles, Project2).

### Materials and Methods

#### Project 1

**Animals:** Three prolific multiparous Meishan X Landrace sows (ML; 16.8 piglets/litter) and 3 multiparous Landrace sows (LL; 11.2 piglets/litter) were inseminated twice with LL mix semen. Sows were slaughtered on Day 15 of gestation and the time of the first insemination was considered as Day 0. Both horns were flushed with PBS to recover the filamentous embryos. Strips of epithelial endometrium were collected at five different sites of implantation, which were chosen at random, for each horn.

**Suppressive subtractive hybridization:** Total RNA was extracted from endometrial and embryonic tissues. Two SSH libraries were performed with the PCR-Select cDNA Subtraction Kit (Clontech, Palo Alto, CA); one for endometrial and one for embryonic tissues. PCR amplifications were performed and the PCR products generated were cloned into the pT-Adv vector (Clontech).

**Differential screening:** The cDNA inserts obtained from the different clones were amplified by PCR and were dotted onto Hybond N+ membranes. Forward and reverse subtraction PCR products as well as nonsubtracted cDNA from testers and drivers were used as <sup>32</sup>P-labeled probes, using PCR-Select Subtraction Hybridization Screening Kit (Clontech). Hybridization signals were analyzed with a densitometer and subsequent DNA sequencing was performed on differentially expressed clones. The sequences obtained were compared against the GenBank database using online computer BLAST program (<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST/>). DNA sequences obtained from both SSH libraries were submitted to GenBank.

## Project 2

**Animals:** After slaughter, 48 commercial pigs ( $105 \pm 3$  kg) were allotted to treatments according to a 2 x 2 factorial design with muscle fat infiltration (normal or severely affected by muscle steatosis) and backfat thickness (fat or lean) as main factors. Samples of semitendinosus muscle of the right ham were removed and stored in liquid nitrogen.

**Suppressive subtractive hybridization:** The SSH technique was performed on a pool of mRNA (3 normal and 3 affected fat pigs) that was extracted from muscle samples. Muscle fibres and intra-muscular fat were separated manually under a binocular. Two SSH libraries were then completed as described above, one for muscle fibres and one for intramuscular fat.

**Differential screening:** The cDNA inserts obtained from the two libraries were amplified by PCR and dotted onto Hybond N+ membranes. Differential screening was performed as described in Project 1.

## Results

### Project 1

The SSH libraries resulted in a total of 137 clones for the endometrial library and 166 clones for the embryonic library, which represented differentially expressed genes between ML and LL sows. After sequencing and analyzing each clone, we classified the cDNA sequences into different categories according to their sequence identities with GenBank database (Figure 1). Clones were considered as: 1) identified genes, when their similarity was  $> 95\%$  with GenBank sequences; 2) High homology, when similarity was 90-95%; 3) Low homology, when their similarity was 80-89%; 4) Novel gene, when clones had no significant similarity to any GenBank sequence.

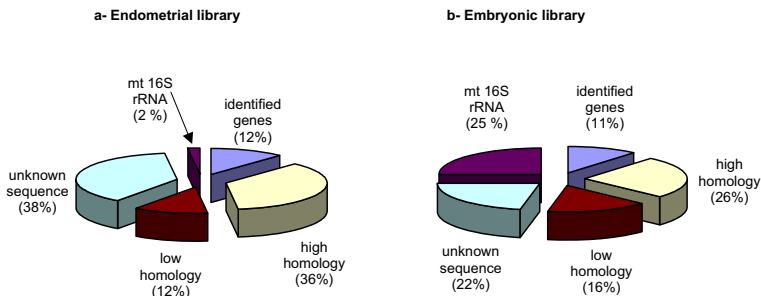


Figure 1. Pie diagrams of the cDNAs sequences found in the subtracted libraries for (a) endometrial and (b) embryonic tissues (Project 1).

### Project 2

Among the cDNA sequences obtained in the muscle fibres library, 10 clones were considered as identified genes, 20 clones showed high homology, whereas 23 others had low homology with GenBank sequences. Fifteen clones had no significant similarity to any GenBank sequence and were considered as novel genes. Sequence analysis of the cDNA clones obtained from the intramuscular fat library resulted in 7 clones which were considered as identified genes, 5 clones that had high homology and 7 others with low homology to GenBank sequences. Forty-four

clones were classified as novel genes. These included 12 clones with homologies to hypothetical and EST sequences, 15 clones with homologies to repetitive elements and 27 clones with no significant homology with any GenBank sequences.

For both research projects, the most promising candidate genes were then chosen according to the following specific selection criteria: 1) having hybridization signal difference higher than 10 on membranes; 2) having over 90% homology with known genes; 3) having involvement in different pathways known or suspected to be critical for embryonic survival or intramuscular fat infiltration; 4) novel genes were also selected for further characterization. Validation of promising genes was performed by using real-time PCR analyses to confirm that they were true differentially expressed genes. Table 1 only shows a few examples of genes that were validated by real-time PCR analyses.

Table 1. Relative mRNA Levels of SSH clones validated by real-time PCR analyses

Project 1					
Identification	Tissue	ML	LL	SEM	ML vs LL <sup>a</sup>
MHC class II SLA-DQ	Endometrial	2.03	4.81	0.09	0.0001
Stanniocalcin	Endometrial	0.86	1.78	0.04	0.0001
Sterol carrier protein 2	Embryonic	1.50	0.89	0.03	0.0001
Transferrin	Embryonic	1.20	0.54	0.04	0.0002
Project 2					
Identification	Tissue	Steatosis	Normal	SEM	St vs N <sup>a</sup>
New member of the aldo-keto reductase family	Muscle fibres	1.87	0.86	0.04	0.001
CDK4-binding protein	Muscle fibres	0.61	0.97	0.05	0.021
Mammalian suppressor of sgv1 (MSS1)	Intramuscular fat	0.64	1.08	0.04	0.009
SFRS2 splicing factor	Intramuscular fat	0.74	1.23	0.07	0.024

<sup>a</sup> P values, Statistical analyses were considered significant when  $P < 0.05$ .

## Discussion and Conclusion

In this study, we have isolated novel and known genes that are differentially expressed in endometrial and embryonic tissues of ML and LL sows during the implantation period (Project 1). We believe that some of these genes could become promising candidate for selection of high litter size breeds since the Meishan breed is recognized for its higher embryonic survival rate. Known and novel genes were also identified in Project 2 and the differentially expressed genes that were validated are now considered as promising candidates that are affected by the development of swine muscle steatosis. The main advantages of using the SSH technique is that it allows the identification of novel genes and of genes that are weakly expressed (low copy number) in particular cells or tissues. This is not the case for commercial cDNA-microarray, another gene profiling technique (Dugan *et al.*, 1999), because the genes that are spotted on microarray chips are only those that can be found in databases. Further characterization will be needed for the most promising genes in order to understand the molecular mechanisms involved in embryonic survival or in the development of swine muscle steatosis.

## References

- Diatchenko *et al.* (1996) Proc Natl Acad Sci U.S.A. 93:6025-6030.  
 Dugan *et al.*, (1999) Nat Genet 21:10-14.  
 Whitworth *et al.*, (2005) Biol Reprod (In Press)

## EFFECTOS DEL GEN *MC4R* SOBRE RENDIMIENTO EN PIEZAS NOBLES Y CALIDAD DE CARNE EN CERDOS

C. Ovilo, A. Fernández, M. Nieto<sup>1</sup> y C. Rodríguez  
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA. 28040 Madrid  
<sup>1</sup> COPESE, Conde de Sepúlveda 24, 40300 Sepúlveda

### INTRODUCCIÓN

El receptor 4 de melanocortina (*MC4R*) es una de las moléculas relacionadas con la regulación del comportamiento alimentario y el peso corporal. El gen que codifica esta proteína se considera por tanto candidato para caracteres de engrasamiento y crecimiento. En cerdos se ha identificado una mutación puntual no sinónima, localizada en una región altamente conservada entre los genes de receptores de melanocortina, que ha mostrado una asociación significativa con el espesor de tocino dorsal, el crecimiento y el consumo de alimentos en distintas líneas (Kim et al, 2000; Hernández-Sánchez et al., 2003). El objetivo de este trabajo ha sido la identificación de los polimorfismos presentes en este gen en una línea comercial Y; y el estudio de su asociación con algunos de los caracteres de engrasamiento y crecimiento previamente estudiados y otros de composición corporal y calidad de carne y grasa sobre los que no hay estudios previos. Se ha empleado un análisis TDT (transmission disequilibrium test) para contrastar la posible estratificación o mezcla de orígenes genéticos en la población que darían lugar a la detección de falsos efectos positivos (Hernández Sánchez et al., 2003).

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Secuenciación del gen MC4R.* El gen *MC4R* está compuesto por un único exón de 999 pb. La secuenciación se realizó a partir de ADN genómico procedente de seis cerdos de la línea Y. Se diseñaron dos parejas de primers a partir de la secuencia del gen disponible (Genbank AB021664), que permitieron amplificar dos fragmentos solapados de 633 y 666 pb respectivamente. Ambas parejas cubren la región del gen comprendida entre las posiciones 459 y 1642, incluyendo la totalidad del único exón así como parte de las regiones 5' y 3' no codificantes. Los productos amplificados por PCR fueron purificados y secuenciados con el kit Big Dye Terminator (Applied Biosystems) en un secuenciador automático (ABI 3100). Las secuencias obtenidas fueron editadas, ensambladas y alineadas para la búsqueda de polimorfismos.

*Genotipado de SNPs:* El alineamiento de las secuencias permitió detectar dos SNPs. El primero es una sustitución C/T sinónima localizada en la posición 709 de la secuencia del gen. El segundo es una sustitución G/A no sinónima (Asp298Asn) localizada en la posición 1426 de la secuencia génica, que coincide con el polimorfismo descrito previamente en otras líneas porcinas (Kim et al, 2000). El polimorfismo G/A localizado en la posición 1426 fue genotipado mediante un protocolo PCR-RFLP *TaqI*. El patrón de restricción del alelo A presenta una única banda de 666 bases y el patrón del alelo G presenta dos bandas de 450 y 216 bases. Este protocolo se aplicó a 333 muestras de animales de la línea Y con registros, además de sus 9 padres y 59 de las 72 madres con ADN disponible.

### *Modelos estadísticos:*

Modelo animal estándar (MA): El genotipo *MC4R* se incorpora en el modelo animal como una variable regresora (A) con valores 1, 0 y -1 para los genotipos AA, AG o GG y el lote de sacrificio como un efecto fijo de 5 niveles. Asimismo en el modelo se incluye una segunda covariable: a) la edad para los caracteres de crecimiento, el peso de la canal para los caracteres de engrasamiento en diversas localizaciones (P2, *Gluteus medius*, GM y escápula, E), el rendimiento en piezas nobles (Lomo, Paletas y Jamones) y el Parámetro L de color de carne; y b) la media de la grasa medida en dos puntos (P2 y GM) para el perfil de ácidos grasos (C16:0, C18:0, C18:1 y C18:2).

Prueba de Transmisión de Desequilibrio (TDT): El modelo animal es idéntico al anterior excepto en lo referente a los genotipos *MC4R*. Cada genotipo individual recibe un valor igual a  $H_m(T_m - 1/2) + H_f(T_f - 1/2)$ ; donde  $H_m(H_f) = 1$  si el padre (madre) es heterocigoto y 0 si es homocigoto;  $T_m(T_f) = 1$ , si el padre (madre) transmite el alelo A al individuo y 0 si transmite el alelo G. La pendiente de la correspondiente covariable,  $b_{TD}$ , es una estimación robusta del efecto de sustitución aditivo del alelo A por G. Los efectos alélicos se estiman también vía un segundo coeficiente de regresión, sensible al efecto de la estructura poblacional,  $b_{PD}$ . Los valores de la correspondiente variable regresora se obtienen de restar A - TD (Hernández-Sánchez, et al., 2003). Este método requiere el conocimiento del genotipo materno y del paterno. En este caso, se desconocía el genotipo de 13 de las 72 madres, aunque uno de los dos alelos se pudo inferir a través del conocimiento del genotipo de sus descendientes. El alelo desconocido fue simulado muestreando de una distribución uniforme y asignando estos alelos según las frecuencias encontradas en la línea materna (0.83 del alelo G y 0.17 del A). Se realizaron 1000 réplicas para generar distintas poblaciones de genotipos maternos y los coeficientes  $b_{TD}$  y  $b_{PD}$  fueron estimados para cada una de ellas.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

*Modelo animal estándar (MA)*: Las frecuencias observadas en los animales con registros para los genotipos AA, AG y GG fueron 0.08, 0.36 y 0.56, respectivamente. Los animales AA fueron más pesados y grasos que los animales GG, si bien de las tres medidas de peso analizadas y las tres medidas de grasa, sólo los efectos sobre el peso a los 140 días y las medidas de engrasamiento (P2 y E) fueron estadísticamente significativos (Tabla 1). Estos resultados concuerdan con los descritos por Kim et al. (2000) para las líneas comerciales Europeas/Americanas analizadas y no así para el cruce Large White x Meishan. Se observaron además efectos sobre nuevos caracteres: los animales AA fueron animales con un rendimiento significativamente menor en lomo y paletas, con una tonalidad de carne más clara (Parámetro L) y mayor contenido de ácidos grasos saturados y menor de ácidos grasos insaturados que los animales GG.

*TDT*: El promedio de las estimaciones de  $b_{TD}$  y  $b_{PD}$  y sus errores se muestran en la Tabla 1, junto a su significación estadística. Salvo para el espesor de grasa en el punto P2, en todos los casos en los que los efectos génicos estimados mediante el modelo animal estándar fueron significativos, el coeficiente  $b_{TD}$  también resultó significativamente distinto de cero. El hecho de que el  $b_{PD}$  no sea significativo puede atribuirse a que sus errores son mayores al contar con menos información. En

ninguno de los caracteres analizados en nuestro estudio la estima  $b_{TD}$  difirió de la estima  $b_{PD}$  lo que muestra que no existe estratificación y por lo tanto riesgo de falsos positivos, pudiendo aceptarse como válidas las estimas obtenidas mediante MA.

Tabla 1: Resultados significativos de estimación del efecto medio de la sustitución del alelo A por G, usando TDT (PD y TD) y el modelo animal estándar (MA)

Carácter	Estima	$b$	$SE(b)$	$t$	$g.l.$	P
Peso 140d (Kg)	PD	1.264	3.623	0.349	83	>0.5
	TD	6.714	2.238	3.000		<0.005
	MA	5.451	1.995	2.732		<0.01
Grasa P2 (mm)	PD	1.843	1.270	1.451	333	<0.2
	TD	1.352	0.719	1.880		<0.1
	MA	1.464	0.643	2.277		<0.05
Grasa E (mm)	PD	3.435	1.909	1.799	92	<0.1
	TD	4.437	1.389	3.194		<0.005
	MA	4.145	1.173	3.534		<0.001
C16:0 (%)	PD	0.260	0.180	1.444	320	<0.2
	TD	0.226	0.093	2.430		<0.02
	MA	0.233	0.084	2.774		<0.01
C18:0 (%)	PD	0.190	0.152	1.250	320	<0.4
	TD	0.323	0.104	3.106		<0.005
	MA	0.283	0.090	3.144		<0.005
C18:1 (%)	PD	-0.190	0.225	0.844	320	<0.4
	TD	-0.286	0.133	2.150		<0.05
	MA	-0.263	0.118	2.229		<0.05
C18:2 (%)	PD	-0.188	0.105	1.790	320	<0.1
	TD	-0.255	0.067	3.806		<0.001
	MA	-0.236	0.059	4.000		<0.001
Parámetro L	PD	-0.280	1.057	0.265	171	>0.5
	TD	2.109	0.606	3.478		<0.001
	MA	1.623	0.556	2.919		<0.005
Lomos (Kg)	PD	-0.086	0.049	1.755	250	<0.1
	TD	-0.079	0.029	2.724		<0.01
	MA	-0.081	0.025	3.240		<0.005
Paletas (Kg)	PD	-0.119	0.048	2.479	333	<0.05
	TD	-0.098	0.033	2.970		<0.005
	MA	-0.105	0.028	3.750		<0.001

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hernández-Sánchez, J., Visscher, P., Plastow, G., Haley, C. (2003) Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin 4 receptor in pigs. *Genetics* 164, 637-644.

Kim, K.S., Larsen, N., Short, T., Plastow, G., Rothschild, M. (2000) A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mammalian Genome* 11, 131-135.

## INFLUENCIA DE GENES MITOCONDRIALES SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS IBERICOS

E. Alves, A. Fernández, C. Ovílo, E. de Pedro<sup>1</sup>, C. Rodríguez y L. Silió  
 Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid  
<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, ETSIAM, Córdoba

### INTRODUCCION

El ADN mitocondrial (mtADN) codifica en los mamíferos 13 enzimas, relacionados con la producción de energía en las mitocondrias, además de 24 moléculas de ácidos ribonucleicos (ARN): 22 tARN y dos rARN. Se considera que esta actividad funcional tendría relevancia práctica en programas de mejora genética animal si el porcentaje de varianza fenotípica explicado por la variación del genoma mitocondrial excediera el 5% (Gibson et al., 1997). Sin embargo, son escasos los estudios publicados sobre asociación entre polimorfismos del mtADN y caracteres productivos en especies domésticas. Efectos de este tipo se han descrito en vacuno tanto sobre caracteres productivos (Schutz et al., 1994; Boetticher et al., 1996) como reproductivos (Sutarno et al., 2000). Asimismo en vacuno de carne, se ha descrito un efecto de haplotipos de mtADN sobre el área de lomo y el vetado de la carne (Mannen et al., 1998), posteriormente atribuido a una mutación en el gen mitocondrial *16S rRNA* (Mannen et al., 2003).

No conocemos los resultados de posibles estudios realizados en cerdos. El objetivo del presente trabajo ha sido investigar la posible influencia de haplotipos de mtADN sobre el contenido en grasa intramuscular en cerdos ibéricos, como principal carácter de calidad de carne. Se ha utilizado para ello la población Torbiscal, en la que el conocimiento íntegro de su genealogía permite rastrear los linajes maternos hasta las cerdas fundadoras de esta población compuesta, lo que facilita la detección de la diversidad existente en el mtADN que se hereda sin recombinación en la vía madre-madre (Bowling et al., 2000).

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Animales.* A partir del registro genealógico completo de los reproductores de la población Torbiscal, se ha podido determinar la evolución a lo largo de su historia del número de linajes maternos de cerdas fundadoras. En el momento presente son nueve los linajes maternos supervivientes. Las muestras biológicas utilizadas para la secuenciación de regiones de mtADN proceden de animales representativos de los mismos. Los datos fenotípicos analizados proceden de 319 animales castrados sacrificados con una media de 353 días de edad y 158.9 kg de peso. Los animales fueron objeto de un despiece comercial y mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se determinó el contenido de grasa intramuscular (GIM) en muestras de lomo.

*Secuenciación.* Las técnicas utilizadas en la amplificación y secuenciación de la región hipervariable de control *D-loop* y del gen Citocromo b (*Cytb*) han sido previamente descritas, así como los métodos de alineamiento de secuencias y detección de polimorfismos (Alves et al., 2003). Técnicas similares se han empleado para el análisis de los genes *16S rRNA* (1571 pb), *NADH4L* (297 pb) y *COII* (696 pb) utilizando parejas de oligos cebadores diseñados a partir de la secuencia de mtADN de cerdo publicada (AJ002189).

*Métodos estadísticos.* Para el análisis del porcentaje de grasa intramuscular, se empleó un modelo animal univariado en el que se consideraron como efectos sistemáticos el lote de sacrificio (9 niveles) y el haplotipo para las regiones mitocondriales *D-loop* y *Cytb* (6 niveles), el peso de la canal como covariable y como efectos aleatorios el genotipo del animal y el residuo. Asumiendo a priori planos, se obtuvieron mediante el algoritmo de muestreo de Gibbs las distribuciones marginales posteriores de los parámetros de interés, y sus principales estadísticos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla 1. Posiciones variables en la región *D-Loop* y gen del Citocromo B (*Cyt B*) comparados con la secuencia de referencia GenBank AJ002189 en linajes maternos fundadores de la línea Torbiscal. Los puntos indican bases idénticas y los guiones la delección de una base.

Haplotipos	Posiciones nucleotídicas	<i>Cyt B</i>										<i>D-loop</i>								
		14264	14309	14717	14740	15017	15264	15544	15558	15578	15615	15694	15714	15715	15717	15741	15758	16127	16139	16141
	AJ002189	T	G	G	C	T	A	G	A	_	T	C	T	T	C	C	T	A	A	A
H1	52 y 136	.	A	A	.	.	A	.	.	.	.	.	C	.	.	C	G	G	G	
H2	214	.	.	A	T	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G	
H3	1	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G	
H4	268, 274 y 291	.	.	A	.	.	.	.	A	.	.	C	.	.	.	C	G	G	G	
H5	270	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	C	.	.	T	C	.	.	.	
H6	272	.	.	A	.	G	.	.	.	.	.	C	.	.	.	C	.	G	G	

En las secuencias de las muestras representativas de los nueve linajes maternos de la población Torbiscal, se han identificado nueve polimorfismos nucleotídicos sencillos (SNP) en la región *D-loop* y otros cuatro en el *CytB*. Las combinaciones de estos SNP permiten definir seis haplotipos mitocondriales. Tres de estos haplotipos se observan en linajes maternos del origen genético Campanario: H5 y H6 corresponden a los linajes de las fundadoras 270 y 272, y H4 es común a los linajes de las cerdas 268, 274 y 291. Los tres restantes haplotipos son específicos de cada una de los otros orígenes: Ervideira (H1), Puebla (H2) y Caldeira (H3), correspondiendo respectivamente a los linajes de las cerdas fundadoras 52 y 136, 1 y 214 (Tabla 1).

Las frecuencias de estos haplotipos (*m*) en los animales Torbiscal con medidas de GIM se muestran en la Tabla 2, junto a sus efectos sobre este carácter expresados como contrastes respecto al haplotipo mitocondrial más frecuente (H2). Un examen de estos resultados indica que el efecto del haplotipo H3 es significativamente mayor que el del H2 [Prob (H3-H2) > 0 = 0.980]. Asimismo este efecto es significativamente mayor que el de los haplotipos H1 y H6 [Prob (H3-H1) > 0 = 0.950; Prob (H3-H6) > 0 = 0.975].



Tabla 2. Frecuencias ( $m$ ) de los haplotipos mitocondriales en cerdos Torbiscal con medidas de grasa intramuscular (GIM). Estadísticos de las distribuciones marginales posteriores de la heredabilidad y efectos sobre GIM (%) de los haplotipos, estimados como desviaciones respecto al de mayor frecuencia (H2,  $m = 60.27$  %)

	$m$ , %	Media	Moda	D. T.	90% MDP	Prob > 0
Heredabilidad, $h^2$	–	0.64	0.65	0.15	0.41 – 0.90	–
Contraste con haplotipo H2 , %						
H1	5.33	- 0.13	- 0.02	0.70	- 1.29 – 0.99	0.428
H3	10.66	1.24	1.19	0.64	0.13 – 2.26	0.981
H4	7.21	0.53	0.48	0.67	- 1.00 – 1.87	0.725
H5	10.03	0.12	0.10	0.61	- 1.29 – 0.99	0.577
H6	25.39	- 0.05	- 0.08	0.45	- 0.78 – 0.70	0.454

Dado que la media del contenido de GIM en los cerdos analizados es de 7.47 %, las diferencias observadas en GIM respecto a los haplotipos H1, H2 y H6, próximas al 1.25 %, suponen un importante efecto favorable del haplotipo H3. Este haplotipo no presenta cambios nucleotídicos exclusivos en ninguna posición de la región secuenciada *D-loop* y *Cytb*, por lo que su posible efecto sobre GIM debe explicarse por desequilibrio de ligamiento con una posición variable de otra región codificante del mtDNA. Para identificar la posible mutación causal de este efecto se han secuenciado hasta el momento los genes mitocondriales *16S rRNA*, *NADH4L* y *COII* en muestras de individuos de todos los haplotipos.

La elección del gen *16S rRNA* se debe a que en vacuno se ha identificado en este gen un SNP con posible efecto sobre el veteado de la carne (Mannen et al., 2003). Las secuencias de este gen obtenidas en todos los cerdos Torbiscal presentan tres variaciones respecto a la secuencia de referencia: la inserción de G y A en las posiciones 1227 y 1585 del mtADN, y la sustitución G → A en la posición 2452. Debido a ello, la secuencia completa es de 1571 pb y no de 1569 pb como se describe en la secuencia de referencia GenBank AJ002189. Además se ha detectado en el haplotipo H6 otra sustitución G → A en la posición 2452, que no permite explicar los efectos observados. No se detectan diferencias en las secuencias de los genes *NADH4L* y *COII*, elegidos entre los de mayor tasa de mutación en cerdos (Kijas y Andersson, 2001). La investigación se extenderá a otros genes mitocondriales no estudiados hasta ahora en cerdos ibéricos.

## REFERENCIAS

- Alves E. et al., 2003. *Anim. Genet.* **34**: 319-324.  
 Boetticher P. J. et al., 1996. *J. Dairy Sci.* **68**: 2038-2051.  
 Bowling et al., 2000. *Anim. Genet.* **31**: 1-7.  
 Gibson J.P. et al., 1997. *Livest. Prod. Sci.* **47**: 115-124.  
 Kijas J.M.H. y Andersson L., 2001. *J. Mol. Evol.* **52**: 302-308.  
 Mannen H. et al., 1998. *J. Anim. Sci.* **76**: 36-41.  
 Mannen H. et al., 2003. *J. Anim. Sci.* **81**: 68-73.  
 Schutz M. M. et al., 1994. *Livest. Prod. Sci.* **37**: 283-295.  
 Sutarno J.M. et al., 2000. *Theriogenology* **57**: 1603-1610.

## EFFECTO DEL QTN DEL GEN IGF2 PORCINO EN UNA POBLACIÓN COMERCIAL LARGE WHITE Y EN UN CRUCE IBÉRICO x LANDRACE.

J. Estellé<sup>1</sup>, A. Mercadé<sup>1</sup>, J.L. Noguera<sup>2</sup>, M. Pérez-Enciso<sup>1,3</sup>, C. Óvilo<sup>4</sup>, A. Sánchez<sup>1</sup>, J.M. Folch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. <sup>2</sup> Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, C/ Alcalde Rovira Roure 177, 25198, Lleida. <sup>3</sup> Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, C/ Lluis Companys 23, 08010, Barcelona. <sup>4</sup> Dpto. Mejora Genética Animal SGIT-INIA, Ctra. De la Coruña Km. 7, 28040, Madrid.

### INTRODUCCIÓN

Se han descrito un gran número de QTLs en especies domésticas, pero en general no se han identificado los genes causales. Una de las excepciones es el QTL de la región del gen IGF2 porcino, que afecta al crecimiento muscular y al depósito de grasa y que tiene su herencia sometida a expresión paterna. La sustitución G3072A localizada en el intrón 3 del gen IGF2, se ha descrito recientemente como la responsable de este QTL (Van Laere *et al.*, 2003). La mutación se encuentra en una región reguladora, altamente conservada entre especies, a la que se une un represor de la transcripción. Este represor se une al alelo q (G), pero no al alelo Q (A). Jungerius *et al.* (2004) describieron que esta sustitución era el factor causal del QTL para grasa dorsal en la región genómica del IGF2 en un cruce entre Meishan y cerdos blancos europeos.

En este trabajo mostramos los efectos de dicha mutación o QTN (*Quantitative Trait Nucleotide*) en una población comercial Large White altamente seleccionada y en un cruce F2 Ibérico x Landrace. Evans *et al.* (2003) y De Koning *et al.* (2003) analizaron la población Large White pero obtuvieron resultados contradictorios para caracteres de grasa en la región del gen IGF2. Los análisis previos en el cruce F2 no detectaron QTLs en la región del gen IGF2 (Varona *et al.*, 2002).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Tanto la población Large White como el cruce F2 y sus registros fenotípicos han sido descritos por Evans *et al.* (2003) y De Koning *et al.* (2003) y por Varona *et al.* (2002), respectivamente. El objetivo de los trabajos de Evans *et al.* (2003) y De Koning *et al.* (2003) con la población Large White era confirmar la segregación de QTLs previamente descritos en cruces experimentales. Por el contrario, el cruce Ibérico x Landrace fue diseñado para la detección de QTLs de crecimiento, grasa y calidad de carne. La población Large White está formada por 5 machos, 54 hembras y 387 descendientes. Para el cruce F2 se usaron 3 machos Ibéricos (línea Guadyrbas) y 31 hembras Landrace, obteniéndose 79 individuos F1 y 321 animales F2.

Los caracteres medidos en ambas poblaciones fueron parcialmente diferentes. En este trabajo nos hemos centrado en los registrados en ambas poblaciones y, principalmente, sobre los que se ha descrito que el IGF2 QTN tiene efecto. Concretamente, se han analizado canales espesor del tocino dorsal en la canal medido mediante el sistema SFK Fat-o-Meater (G2), el espesor del tocino dorsal en la última costilla (ETD), el peso de la canal (PC), el área del lomo (AL), el peso de

ambos jamones (PJAM) y el peso de ambas paletillas (PPAL). El área del lomo se midió sólo en la población F2.

El genotipado del QTN del gen IGF2 se ha realizado de acuerdo con Van Laere *et al.* (2003), en un equipo PSQ HS 96 (Pyrosequencing AB). Una vez conocido el genotipo de los machos parentales, la descendencia de los machos heterocigotos con hembras homocigotas fue genotipada, pudiéndose así determinar claramente el alelo de origen paterno recibido.

El efecto del QTN del gen IGF2 se ha testado mediante el modelo:

$$y_i = \text{sexo}_i + \text{lote}_i + \beta c_i + \lambda_i a_{\text{IGF}} + u_i + e_i, \quad (1)$$

donde  $y_i$  representa la medida fenotípica del individuo  $i$ ésimo,  $\beta$  el coeficiente de covariación de  $c_i$  (peso de canal, excepto para PC, corregido por edad al sacrificio),  $\lambda_i$  es una variable indicadora con valores  $-\frac{1}{2}$  y  $\frac{1}{2}$ , dependiendo del alelo paterno recibido, y  $a_{\text{IGF}}$  es el efecto del QTN del gen IGF2,  $u_i$  el efecto genético infinitesimal (con matriz de covarianza  $\mathbf{A}\sigma_u^2$ ) y  $e_i$  el residuo. El efecto del QTN se ha testado usando un test *Likelihood Ratio* con el modelo nulo idéntico a (1) pero sin el efecto  $a_{\text{IGF}}$ . Asintóticamente,  $-2\log L$  ratio se distribuye como una Chi-2 con un grado de libertad. Se ha usado el paquete informático Qxpack (Pérez-Enciso y Misztal, 2004) para el cálculo de las verosimilitudes y las estimas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 5 machos Large White, 3 son heterocigotos Qq, 1 es QQ y el otro es qq, conformando una situación casi ideal para testar los efectos del QTN. A los descendientes de machos QQ y qq se les asignó alelo paterno Q y q, respectivamente. Los descendientes de los machos heterocigotos con hembras homocigotas se genotiparon, pudiéndose así determinar sin errores su alelo de origen paterno. En total, se pudo asignar un alelo de origen paterno a 280 individuos Large White. En lo que se refiere a la población F2, los machos Ibérico fueron qq, mientras que el QTN esta segregando en la población de hembras Landrace (4 hembras son Qq). Desafortunadamente, sólo un macho F1 recibió el alelo Q y el QTN está segregando en una pequeña familia F2, donde 26 de 50 individuos recibieron un alelo Q del padre. En consecuencia, la situación en el cruce F2 está muy desequilibrada en lo que se refiere a los genotipos del IGF2 QTN en comparación a la de la población Large White.

Los resultados estadísticos se presentan en la Tabla 1. En la población Large White, el efecto del QTN es significativo ( $P < 0.05$ ) para todos los caracteres excepto el pH. Las estimas de los efectos del QTN están de acuerdo con lo descrito por Van Laere *et al.* (2003), el alelo Q disminuye las medidas de engrasamiento (G2 y ETD) e incrementa las medidas de PC, PJAM, PPAL y AL, pudiéndose considerar estos caracteres estimadores del crecimiento muscular. En la F2, a pesar del pequeño tamaño de la familia en la que está segregando el QTN, el efecto es significativo para G2, AL y PJAM. En esta población, la significación es menor para todos los caracteres (excepto PJAM) y los errores de las estimas son mayores.

Una cuestión interesante es la diferencia de significación entre las dos medidas de grasa usadas (G2 y ETD). La medida de ETD se ha registrado manualmente con regleta mientras que G2 se ha medido con la prueba SFK Fat-o-Meater (FOM). Hemos observado que en la población F2 la medida G2 es menos precisa que ETD, ya que el FOM no está calibrada para un espesor de tocino dorsal

tan grande tal y cómo se observa en esta población. Sin embargo, esto no tiene por que cumplirse en la población Large White. La medida G2 de la población Large White ha sido la medida más significativa de este estudio y fue así mismo el QTL más significativo del estudio de De Koning *et al.* (2003). Jungerius *et al.* (2004) observaron también resultados divergentes entre diferentes medidas de grasa, atribuyendo las discrepancias a la diferente capacidad entre técnicas de medición para estimar la tercera capa lipídica (más interna) y/o a la presencia de un QTL 'fantasma'. En todo caso, se deberán realizar trabajos adicionales para resolver esta importante cuestión.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos con el modelo (1) en la población Large White (LW) y en el cruce Ibérico x Landrace (F2).

Carácter	valor de P <sup>a</sup>		a <sub>IGF</sub> ± ES <sup>b</sup>	
	LW	F2	LW	F2
G2 (mm)	5,5 x 10 <sup>-8</sup>	2,3 x 10 <sup>-3</sup>	-2,33 ± 0,42	-3,75 ± 1,21
ETD (cm)	1,4 x 10 <sup>-3</sup>	0,93	-0,15 ± 0,05	0,02 ± 0,11
PC (kg)	3,0 x 10 <sup>-3</sup>	0,71	3,70 ± 1,24	0,87 ± 2,11
AL (cm <sup>2</sup> )	-	1,4 x 10 <sup>-3</sup>	-	3,20 ± 1
PJAM (kg)	1,6 x 10 <sup>-3</sup>	4,8 x 10 <sup>-4</sup>	0,30 ± 0,01	0,60 ± 0,26
PPAL (kg)	9,8 x 10 <sup>-7</sup>	0,39	0,30 ± 0,06	0,14 ± 0,16

<sup>a</sup> P-valor nominal al testar el efecto IGF2-QTN.

<sup>b</sup> a<sub>IGF</sub> : efecto IGF2-QTN (efecto Q – q); ES: Error Standard.

Otra cuestión interesante es que los alelos del QTN se encuentren a frecuencias intermedias en poblaciones altamente seleccionadas cómo son la Large White y la Landrace usadas en este estudio, quizá por una reciente introducción del alelo Q o por efectos pleiotrópicos de la mutación. Este hecho, junto a la importancia económica de los caracteres a los que afecta la mutación en cuestión, genera una situación ideal para realizar selección asistida por marcadores usando el genotipo de este QTN.

En conclusión, hemos mostrado que la sustitución IGF2-intrón3-G3072A tiene grandes efectos en caracteres de la población Large White e incluso en el cruce F2 Ibérico x Landrace, donde la mutación está presente sólo en una pequeña familia. Estos resultados se han obtenido mediante poblaciones independientes de las del estudio original (Van Laere *et al.*, 2003) y el estudio de Jungerius *et al.* (2004), dotando de validez adicional a la relevancia de esta mutación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De Koning *et al.* 2003. *J. Anim. Sci.* 81:2155–2163.  
 Evans *et al.* 2003. *Genetics* 164:621–627.  
 Jungerius *et al.* 2004. *Genet. Res.* 84:95-101.  
 Pérez-Enciso y Misztal 2004. *Bioinformatics* 20:2792-2798.  
 Van Laere *et al.* 2003 *Nature* 425:832-836.  
 Varona *et al.* 2002. *Genet. Res.* 80:145-154.

Trabajo financiado por MCYT (AGF99-0284-CO2-02) y UE (BIO4-CT97-2243). Los autores agradecen a A.S. Van Laere y L. Andersson su ayuda en el genotipado del QTN del gen IGF2 y a L. Varona sus comentarios sobre el manuscrito. J. Estellé disfruta una beca F.P.U. del Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) y A. Mercadé, una beca F.I. de la Generalitat de Catalunya.

## ESTUDIO DE ASOCIACION DEL EFECTO DEL GEN *FABP4* EN UN CRUCE ENTRE IBERICO Y LANDRACE

A. Mercadé<sup>1</sup>, M. Pérez-Enciso<sup>1,3</sup>, L. Varona<sup>2</sup>, E. Alves<sup>4</sup>, J.L. Noguera<sup>2</sup>, A. Sánchez<sup>1</sup>, J.M. Folch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. <sup>2</sup> Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, C/ Alcalde Rovira Roure 177, 25198, Lleida. <sup>3</sup> Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, C/ Lluis Companys 23, 08010, Barcelona. <sup>4</sup> Departamento de Mejora Animal SGIT-INIA, Ctra. De la Coruña km.7, Madrid, 28040, Spain

### INTRODUCCIÓN

El gen *fatty acid binding protein 4 (FABP4)* codifica una proteína intracelular específica de los adipocitos que transporta ácidos grasos desde la membrana celular a los lugares de oxidación de éstos o hacia los lugares de síntesis de triglicéridos o fosfolípidos (Veerkamp et Maatman, 1995). En el intrón 1 se detectó un microsatélite con un polimorfismo asociado al contenido de grasa intramuscular y crecimiento en una población de Duroc (Gerbens et al, 1998). Esta asociación con grasa intramuscular no se encontró ni en Meishan (Gerbens et al, 2000) ni en una población de cerdos austríacos. Sin embargo, en esta última población se encontró una posible asociación con crecimiento (Nechtelberger et al, 2001) y en Meishan, con el grosor de grasa dorsal (Gerbens et al, 2000).

Previamente, hemos sugerido que existen al menos dos loci segregando en el SSC4, uno de los cuales se sitúa muy próximo al gen *FABP4* (Mercadé et al, 2005). El objetivo del presente trabajo es la identificación de polimorfismos en el gen *FABP4* mediante secuenciación, así como realizar un estudio de asociación con caracteres de crecimiento, calidad de la canal y de la carne en un cruce de Ibérico x Landrace.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Material animal

Se ha analizado el pedigrí completo de un cruce entre la línea ibérica Guagyerbas y Landrace (Varona et al., 2002). Además de los 321 animales F<sub>2</sub>, en este trabajo se han incluido 87 animales F<sub>3</sub> y 85 animales obtenidos por retrocruzamiento (RC).

#### Identificación de polimorfismos

A partir de la secuencia del gen *FABP4* porcino (GenBank Y16039) se diseñaron tres pares de cebadores para amplificar por PCR los cuatro exones y parte del promotor y de los intrones del gen. Las secuencias de los cebadores y los tamaños de los fragmentos amplificados se detallan en la Tabla 1.

Las condiciones de las PCR fueron 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTPs, 300 nm de cada cebador, 60 ng ADN genómico y 1.3 U *Expand High Fidelity PCR* (Roche Molecular Biochemicals) en un volumen final de 25 µl. El perfil térmico consistía en 95 °C durante 3 min., seguido de 10 ciclos de 95 °C 30 s, 56 °C 1 min y 72 °C 2.5 min, seguido de 25 ciclos de 95 °C 30 s, 56 °C 1 min y 72 °C 2.5 min (aumentando 20 s la extensión a cada ciclo) y una extensión final de 72 °C durante 10 min.

Los fragmentos amplificados fueron purificados y posteriormente secuenciados mediante *BigDye™ Terminator v3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing kit* (Applied Biosystems) con los cebadores detallados en la Tabla 1. Las reacciones de secuenciación se analizaron en un equipo de electroforesis capilar ABI PRISM 3100 *Avant* (Applied Biosystems). El análisis de las secuencias se realizó mediante el *software SeqScape™ v2.1* (Applied Biosystems).

Tabla1.Cebadores utilizados para la amplificación del ADN, secuenciación y pirosecuenciación

Cebadores	Secuencia	Tamaño
FABP4proF	5'-GCT CAG TTG AAT ACA TGG TGT AGA GAT T-3'	1499 pb
FABP4in1R	5'-GTT ACT GCT TAG TTT ATA TGC AAA AGG AAT-3'	
FABP4in2F	5'-AGA AGA GTT TTC CAT TTA AGT GAT TGG-3'	1303 pb
FABP4R2	5'-CAG ATC TAG AAG TCA GGG ATC TTT GG-3'	
FABP4F3	5'-TTG TGT ATG CTG TTG CTT TTG G-3'	1055 pb
FABP4R3	5'-AAA AAT CAT ATT CTA CTG GAA ACA AAG-3'	
FABP4seqF	5'-CTA AGA AGT TGT TTC TGA AAC C-3'	
FABP4seqR	5'-GGA GTA ACC AAT TAG GAA CAA-3'	
aFABPpyroFw	5'-biotina-TTC TAG ACC AAA GTC ACA ACT AAT GC -3'	
aFABPpyroRv	5'-TTC ATA TCA GTT CAC CTT TA-3'	

### Genotipado por pirosecuenciación

Para genotipar el polimorfismo detectado en la posición 2634 en nuestra población de Ibérico x Landrace se puso a punto el método basado en la pirosecuenciación. Se amplificó por PCR un fragmento de 186 pb del intrón 1 mediante los cebadores aFABPpyroFw y FABP4in1R (Tabla 1). La PCR contenía 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dNTPs, 500 nm de cada cebador, 45 ng ADN y 0.6 U Taq DNA polimerasa (Invitrogen). El perfil térmico fue 95 °C 3 min, seguido de 45 ciclos de 95 °C 1 min, 60 °C 1 min, 72 °C 1.5 min y finalmente 72 °C 5 min. El fragmento amplificado fue purificado y secuenciado usando el cebador aFABPpyroRv (Tabla 1).

### Análisis estadístico

En el modelo se incluyeron los efectos sexo, lote, edad (para peso) o peso de la canal (para el resto de caracteres) como covariables, el efecto genético infinitesimal, el genotipo del polimorfismo del gen *FABP4* y un QTL, que se ajustó cada cM a lo largo de todo el SSC4 (Zhao et al., 2003 y Varona et al., 2005). En otro modelo se ajustó sólo el QTL y, por último, también se realizó un análisis de asociación con los marcadores adyacentes a la inserción identificada (un microsatélite en el gen *FABP4* y el SW839). Se utilizó el programa Qxpak (Pérez-Enciso y Misztal, 2004) para realizar los análisis. En el modelo con el QTL y la inserción se testó el efecto del QTL manteniendo la inserción en el modelo. Este test nos permite averiguar si la inserción explica todo el efecto del QTL. De forma simétrica, se testó el efecto de la inserción manteniendo el QTL en el modelo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los machos y en siete hembras parentales del cruce Ibérico x Landrace se han secuenciado completamente los cuatro exones y el intrón 3 y, parcialmente, el promotor, los intrones 1, 2 y la región 3' flanqueante. Al comparar las secuencias obtenidas se han detectado un total de 22 posiciones polimórficas respecto a la secuencia de referencia (GenBank Y16039), localizadas en el promotor, intrón 1 y 3 y región 3' flanqueante. Cuatro polimorfismos difieren únicamente con la secuencia de referencia mientras que en los 18 restantes se encuentran diferencias entre los animales analizados (Tabla 2). Únicamente la inserción de una C en la posición 2634 es muy informativa ya que se encuentra en los 3 parentales Ibéricos y en sólo 7 cerdas Landrace. Los análisis estadísticos relativos al efecto de la inserción se indican en la Tabla 3. La inserción explica aparentemente todo el efecto del QTL para grasa, ya que el valor P del QTL no es significativo una vez que incluimos la inserción en el modelo. Al contrario, la inserción no está asociada al crecimiento (última fila en la Tabla 3). Finalmente, aunque la inserción es mucho más significativa que el QTL para longitud de canal y peso de las paletas, no podemos excluir categóricamente que exista un

gen adicional en el SSC4 para estos caracteres. Sin embargo, estos resultados refuerzan al gen *FABP4* como candidato posicional para el QTL de grasa y confirman la existencia de un segundo QTL, tal como se indica en los resultados descritos en Mercadé et al (2005), trabajo en el cual se estableció que los caracteres longitud de la canal y peso de las paletillas estaban afectados por dos loci. El primero se situaba muy próximo al gen *FABP4* y mostraba también un efecto pleiotrópico muy marcado para grasa. El segundo, situado entre los marcadores S0073 y S0214, también afectaría al peso vivo pero con un efecto menor.

Tabla 2. Polimorfismos detectados en el gen *FABP4*

Región	Posición	Ref	Pol	Región	Posición	Ref	Pol
Promotor	1381 <sup>1</sup>	T	-	Intrón 1	4789	T	G
	1412 <sup>1</sup>	A	G		5069	G	A
Intrón 1	2634	-	C		5000 <sup>2</sup>	T	C
	4205	G	A		5005 <sup>2</sup>	G	A
	4217	CAT	-	Intrón 3	6252	C	T
	4466	T	G		6367	C	A
	4555	T	C		6553	G	T
	4629 <sup>1</sup>	G	-		6611 <sup>1</sup>	C	T
	4750	A	C		6627	A	G
4782	T	C	3'UTR	6723 <sup>2</sup>	R	R	
4788	A	C		6845 <sup>2</sup>	R	R	

<sup>1</sup>: polimorfismos respecto a la secuencia de referencia (Y16039)

<sup>2</sup>: polimorfismos previamente descritos en la secuencia de referencia (Y16039)

Ref: referencia Y16039; Pol: polimorfismos detectados

Tabla 3. Resultados obtenidos del análisis estadístico

Carácter	Modelo							
	QTL		QTL+Ins <sup>1</sup>			Asociación		
	Pos	P <sub>QTL</sub>	P <sub>QTL</sub>	P <sub>Ins</sub>	P <sub>QTL+Ins</sub>	P <sub>FABP4</sub>	P <sub>Ins</sub>	P <sub>Sw839</sub>
G1	73	5x10 <sup>-11</sup>	0,04	3x10 <sup>-4</sup>	1x10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-8</sup>
G2	70	5x10 <sup>-8</sup>	0,19	6x10 <sup>-6</sup>	5x10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-6</sup>
PP	71	5x10 <sup>-9</sup>	0,02	1x10 <sup>-7</sup>	2x10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-6</sup>
LG	71	1x10 <sup>-8</sup>	0,05	1x10 <sup>-7</sup>	3x10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-7</sup>
PV	93	7x10 <sup>-4</sup>	6x10 <sup>-3</sup>	0,24	2x10 <sup>-3</sup>	0,3	0,07	10 <sup>-2</sup>

G1: grasa cuello; G2: grasa última costilla; PP: peso paletas; LG: longitud canal; PV: peso vivo; Pos: posición en cM; Ins<sup>1</sup>: inserción

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Nova Genética S.A. por su colaboración en el desarrollo del experimento. El presente trabajo fue financiado con el proyecto CICYT (AGF96-2510-C05)

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Gerbens F et al. 1998. Mamm Genome 9, 1022-26
- Gerbens F et al. 2000. J Anim Sci 78, 552-9
- Mercadé A et al. 2005. Mamm Genome. Aceptado
- Nechtberger D et al. 2001. J Anim Sci 79, 2798-804
- Pérez-Enciso M y Misztal I. 2004. Bioinformatics 20, 2792-8
- Varona L et al. 2002 Genet Res 80, 145-54
- Varona L et al. 2005 J. Anim. Breed. Genet. 122, 30-6
- Veerkamp JH y Maatman RG. 1995. Prog Lipid Res 34, 17-52
- Zhao HH et al. 2003 Mamm Genome 17, 472-82

## RELACIÓN ENTRE CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA EL CONTENIDO Y LA COMPOSICIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR EN CERDOS DUROC

Bosch, L.<sup>(1)</sup>, Tor, M.<sup>(2)</sup>, Reixach, J.<sup>(3)</sup> y Estany, J.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, 17071 Girona.

<sup>(2)</sup> Departament de Producció Animal. Universitat de Lleida, 25198 Lleida.

<sup>(3)</sup> Selecció Batallé SA. 17421 Riudarenes

### INTRODUCCIÓN

El contenido en grasa muscular y su composición son dos características que definen la calidad de la carne de cerdo, en especial de aquella cuyo destino es el mercado de curados. De ahí el interés de las empresas de mejora porcina y de las fábricas de piensos por conocer cómo éstas evolucionan con la edad, el peso del animal o el músculo, para luego poderlos modificar, o simplemente controlar, según el caso. La selección genética de estos caracteres no sería especialmente compleja si no fuera porque no hay un método fácil, económico y fiable de obtener registros en vivo, y porque el contenido de grasa intramuscular presenta una correlación elevada y desfavorable con el engrasamiento general del animal. El objetivo de este trabajo es conocer cuál es la evolución del contenido y la composición de la grasa intramuscular en la fase final del engorde de una línea de cerdos Duroc, a la vez que determinar la correlación existente entre determinaciones hechas a diferentes edades y músculos. En último término se propone evaluar la alternativa de utilizar como un criterio de selección en vivo los resultados obtenidos en una biopsia.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Material Animal y toma de muestras.* Se controlaron en condiciones comerciales 246 cerdos castrados Duroc hasta un peso de unos 135 kg. A los 156 (94 Kg) 183 (113 kg) y 214 (130 kg) días de edad los cerdos fueron pesados y registrados, a la altura de la última costilla y a 5 cm de la línea media con un equipo Piglog, el espesor de la grasa dorsal (GD) y la profundidad del lomo (PL). En ese mismo momento, a una muestra de ellos (n = 86, 191 y 64, para cada edad respectivamente) se les extrajo a 6 cm de profundidad una biopsia del lomo de la misma zona dorsal (B155, B185, B215), mediante un equipo Biotech PPB-U cargado con una cánula de 8mm (Bosch et al, 2003). Todos los cerdos se sacrificaron en un matadero comercial, registrándose el peso de la canal y con un equipo Autofom el GD y PL entre la tercera y la cuarta costilla de la canal. Posteriormente, se practicó en idéntica zona donde se tomaron las biopsias en vivo una nueva biopsia sobre la canal (BLD; n = 88). Se seccionó una pieza de 1Kg de esta zona con el fin de obtener una muestra homogeneizada del músculo *longissimus dorsi* de esta sección (LD). En el matadero también se tomó una muestra representativa de los músculos *glutaeus medius* (GM; n=216) y de *rectus capitis* (RC; n=24) con el fin de analizar un homogeneizado de cada músculo.



*Métodos de laboratorio y estadísticos.* Las muestras se conservaron y analizaron siguiendo el protocolo descrito en Bosch et al (2003). El contenido en grasa intramuscular (GRIN) se obtuvo a partir de la determinación cuantitativa de los ácidos grasos por cromatografía gaseosa en columna capilar, y se expresó como porcentaje sobre materia seca. Los ácidos grasos saturados (SFA: C14:0; C16:0; C18:0; y C20:0), monoinsaturados ( MUFA: C16:1; C18:1; y C20:1) y poliinsaturados (PUFA: C18:2; C18:3; C20:2; y C20:3) se expresaron como porcentaje relativo. La serie temporal de estas variables se analizó según un modelo mixto en el que se incluyeron como efectos fijos el lote (3 lotes), el tipo de muestreo (biopsia en vivo; biopsia en canal; y homogeneizado de lomo), el peso de la muestra de biopsia y su transformada cuadrática; y la edad y su transformada cuadrática. El animal y el residual fueron los efectos aleatorios. La correlación media entre determinaciones de un mismo animal se estimó como el cociente entre la varianza asociada al efecto animal y la varianza total. Una simplificación del modelo descrito se aplicó al análisis del peso, GD y PL. Se calculó la correlación parcial entre variables atendiendo a los efectos fijos anteriormente citados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso, GD y PL presentan una evolución cuadrática negativa con la edad (Tabla 1) y PL en particular se estabiliza a los 195 días. El contenido de GRIN aumenta de forma lineal con la edad, a razón de un 0.5% cada diez días. La composición de GRIN se modifica con la edad, de tal manera que la proporción de MUFA aumenta en la misma medida con la que disminuye la de PUFA. Los SFA permanecen estables a lo largo del período estudiado. Durante esta fase del engorde, la correlación entre determinaciones de GRIN en un mismo animal fue 0.5, inferior a la estimada para el peso y GD pero superior a la encontrada para PL y MUFA .

**Tabla 1.** Efecto de la edad, respecto a la media a 185 días, y correlación (r) entre observaciones realizadas en un mismo animal

Edad (días)	165 d	171 d	178 d	185 d	192 d	199 d	206 d	r
<b>Peso (kg)</b>	-14.32	-9.37	-4.60	<b>114.56</b>	4.42	8.67	12.74	0.79
<b>GD (mm)</b>	-2.32	-1.46	-0.69	<b>20.18</b>	0.60	1.12	1.55	0.65
<b>PL (mm)</b>	-1.38	-0.81	-0.34	<b>44.33</b>	0,23	0.34	0.33	0.19
<b>GRIN (% MS)</b>	-1.08	-0.72	-0.36	<b>12.26</b>	0.36	0.72	1.08	0.50
<b>SFA (%)</b>	ns	ns	ns	<b>41.61</b>	ns	ns	ns	0.46
<b>MUFA (%)</b>	-1.37	-0.98	-0.52	<b>43.95</b>	0.58	1.23	1.94	0.29
<b>PUFA (%)</b>	1.56	1.04	0.52	<b>13.17</b>	-0.52	-1.04	-1.56	0.60

GD: Espesor de grasa dorsal; PL: Profundidad del lomo; GRIN: Contenido de grasa intramuscular; SFA, MUFA y PUFA: porcentaje de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y polinsaturados; ns: no significativo

La correlación parcial entre el contenido de GRIN de una biopsia en vivo y el determinado sobre una muestra representativa de la canal (LD) osciló entre 0.33 y 0.61 (Tabla 2), siendo mayor en la biopsia más alejada del momento del sacrificio.

(B155). Este hecho posiblemente se deba a que el peso de la muestra de músculo en una biopsia disminuye con la edad y el espesor de grasa (Bosch et al, 2005), lo que aumenta tanto el error causado por contaminación con grasa dorsal como el de muestreo. No se observó variabilidad individual en el ritmo de deposición del GRIN. La correlación de GRIN con PL por lo general no fue significativa mientras que con GD fue siempre positiva, con una tendencia decreciente con la edad (0.53 en B155 y 0.35 en LD). Los resultados obtenidos indican que B155 es mejor criterio para GRIN que biopsias posteriores, si bien también apuntan a que a esta edad el grado de asociación con GD también puede ser mayor. La heredabilidad del GRIN en esta población se estimó en 0.41 y en 0.64 su correlación genética con GD (Solanes et al, 2005), lo que sugiere una fuerte base genética en las correlaciones observadas.

**Tabla 2.** Correlación parcial del contenido y composición de la grasa intramuscular de longissimus dorsi en la canal y los obtenidos en una biopsia extraída en vivo a 155 (B155), 185 (B185) y 215 (B215) días de edad y sobre la canal (BLD), así como en sendas muestras de *glutaeus medius* (GM) y *rectus capitis* (RC)

	B155	B185	B215	BLD	GM	RC
<b>GRIN</b> (% MS)	0.61	0.50	0.33	0.68	0.55	0.54
<b>SFA</b> (%)	0.72	0.76	0.71	0.44	0.58	0.89
<b>MUFA</b> (%)	0.50	0.72	0.72	0.35	0.80	0.87
<b>PUFA</b> (%)	0.72	0.70	0.70	0.70	0.43	0.59

Una de las críticas a las determinaciones mediante biopsia es su error de muestreo (Baas et al, 1998). Los resultados obtenidos han revelado que éste es considerable, pero no mayor que el que se observa de un músculo respecto a otro. En efecto, la correlación entre determinaciones a diferentes edades es similar a la hallada entre músculos (Tabla 2). No parece que sea tan determinante realizar bien el muestreo de un músculo en particular cuando el objetivo incluye varios. En cualquier caso, la pérdida de valor fenotípico por basar la elección en un criterio distinto a LD, asumido éste como el objetivo de selección, nunca superó el 15% del valor obtenido con LD. Aunque con alguna excepción, las correlaciones entre criterios para SFA, MUFA y PUFA fueron por lo general mayores a las de GRIN (Tabla 2). En conclusión, los resultados sugieren que puede ser tan útil como criterio de selección el GRIN de una biopsia extraída a una edad relativamente temprana como el GRIN de una muestra representativa de un sólo músculo de la canal. Su utilidad dentro de un programa de mejora deberá evaluarse complementariamente y en competencia con otros criterios (predicción por ultrasonidos, indicadores fisiológicos y marcadores genéticos).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baas et al (1998). Final Research Grant Project. Iowa State Univ..  
 Bosch et al (2003). ITEA (2003) Vol. Extra N°24. Tomo I, 193-195  
 Bosch et al (2005). ITEA (2005) XI Jornadas sobre Producción Animal.  
 Solanes et al (2005). 56th Annual Meeting of the EAAP, Uppsala, Suecia.

**Agradecimientos.** Trabajo financiado por el proyecto CICYT AGL2001-0648. Agradecemos el buen hacer y la profesionalidad de Teresa Giró y Anna Naco en la realización de los análisis de laboratorio.

## **BÚSQUEDA DE QTL CON INFLUENCIA SOBRE CARACTERES DE MORFOLOGÍA CORPORAL EN EL CROMOSOMA OVINO 16\***

B. Gutiérrez-Gil, J.-J. Arranz, M.-F. El-Zarei, R. Rodríguez, Y. Bayón, L.-F. de la Fuente y F. San Primitivo

Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León

### **INTRODUCCIÓN**

El programa de selección para mejora de la producción láctea en la raza ovina Churra se inició en el año 1986. Desde entonces los criterios de selección han sido exclusivamente productivos (cantidad de leche y porcentaje de proteína). En los últimos años, con el programa consolidado, se plantea la posibilidad de incluir nuevos objetivos de selección, entre los que destacan algunos caracteres morfológicos tanto de la glándula mamaria como de la morfología corporal. Estos últimos caracteres, en el ganado vacuno de aptitud láctea, han mostrado estar correlacionados genéticamente con los aspectos productivos y funcionales (Short *et al.*, 1992), principalmente la predisposición a la mastitis y la duración de la vida productiva (Rogers *et al.*, 1998). En una etapa inicial, antes de su introducción en el programa de selección, se han medido una serie de fenotipos relativos a la morfología corporal en un grupo de animales pertenecientes al núcleo de selección con objeto de estimar los parámetros genéticos para los mismos.

Además, teniendo en cuenta que nuestro grupo de investigación ha realizado un barrido genómico para la identificación de regiones cromosómicas con influencia sobre distintos caracteres de interés productivo en el ganado ovino de raza Churra, se ha realizado una búsqueda de QTL con influencia sobre los caracteres de morfología corporal medidos. En el presente trabajo se presentan los resultados obtenidos para estos cinco caracteres en el cromosoma 16.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El diseño experimental utilizado en este trabajo ha sido el conocido como “*diseño hija*”, y ha incluido un total de 739 animales pertenecientes a 11 familias de medio-hermanas, distribuidas en diferentes granjas del Núcleo de Selección de ANCHE. Para el estudio del cromosoma 16 se eligieron ocho marcadores a partir de la versión actualizada del mapa de ligamiento ovino (Maddox *et al.*, 2001): RM106, BM1225, OARCP23, GHRLIV, BMS2361, AGLA29, MCM1 y MCM150. Tras la obtención del DNA, se amplificaron los marcadores mediante PCR y se identificaron las variantes alélicas a partir de la electroforesis realizada en un secuenciador automático ABI PRISM 377.

Los caracteres de morfología corporal considerados en el estudio han sido los descritos por De la Fuente *et al.* (2003) e incluyen la estatura del animal, los aplomos traseros, la inclinación de los talones, la anchura de la grupa y un carácter general que valora apariencia general del animal. Para estos caracteres se utiliza una escala de valoración lineal, puntuándose de 1 a 9 los valores extremos de la población para cada aspecto. Los valores utilizados como fenotipos corresponden a las denominadas “*Yield deviations*” (YD), estimadas como la desviación con respecto a la media poblacional de los valores medidos, corregidos para todos los factores ambientales que contribuyen de forma significativa a la varianza del carácter.

---

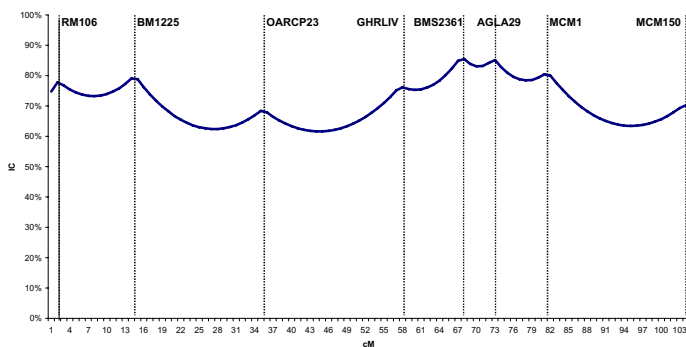
\* Trabajo financiado por la UE (QLK5-CT2000-000656) y el MCYT, España (1FD97-0225)

La construcción del mapa de ligamiento (mapa macho) se realizó con la ayuda del programa CRIMAP (Lander y Green, 1987). El contenido de información del mapa para el estudio de QTL se estimó, en cada cM, según las indicaciones de Coppieters *et al.* (1998). El análisis de asociación se llevó a cabo mediante el método de regresión con múltiples marcadores descrito por Knott *et al.* (1996). Los valores de significación *chromosomewise* fueron determinados mediante permutaciones de los valores fenotípicos (Churchill y Doerge, 1994).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra el mapa obtenido tras el análisis de ligamiento realizado en cada cM del cromosoma 16 ovino. Asimismo, se representan los valores del parámetro Contenido de Información (CI) a lo largo del mapa. La longitud del mapa fue de 105 cM (Haldane). El contenido de información promedio a lo largo de este grupo de ligamiento fue del 71%, con un valor máximo de 85,51% en la posición del marcador BMS2361, y un mínimo de 61,63% en el intervalo [OARCP23-GHRLIV].

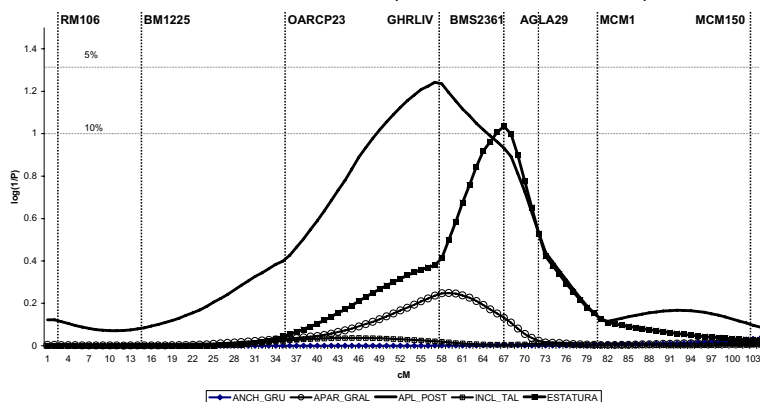
**Figura 1.** Contenido de información obtenido a lo largo del mapa de ligamiento de OAR16



Los perfiles del test estadístico obtenidos en el análisis global de la población (*across-families*), para cada uno de los caracteres considerados en el presente trabajo, aparecen en la Figura 2. En el eje abscisas se representa la longitud del mapa de ligamiento en cM (Haldane) y en el eje de ordenadas los valores obtenidos para el parámetro  $\log_{10}(1/P)$ , siendo  $P$  el  $P$ -value al nivel *chromosomewise* calculado a partir de las permutaciones de los fenotipos. Se indican los niveles de significación del 10% y 5% *chromosomewise*.

Se puede observar que el perfil estadístico del carácter aplomos posteriores presentó una significación próxima al 5% *chromosomewise* ( $P = 0,056$ ) en la región de 58 cM, siendo GHRLIV el marcador más cercano al efecto detectado. Con una significación ligeramente inferior, pero también superando el nivel del 10% *chromosomewise*, el análisis estadístico *across-families* mostró un posible QTL para el carácter estatura, en la región flanqueada por los marcadores GHRLIV y BMS2361. Hay que tener en cuenta que el marcador GHRLIV, próximo a los dos efectos observados, se encuentra en la secuencia del gen de la hormona del crecimiento. Por lo que respecta al análisis intrafamiliar, en el caso de los aplomos posteriores las familias que han mostrado segregación del efecto han sido dos de las más numerosas, la familia 1 (75 hijas) y la 11 (71 hijas), en la región comprendida entre 48 y 65 cM. En el segundo caso, han sido la familia 3 (44 hijas) y la familia 6 (76 hijas) las que han presentado una evidencia de ser heterocigóticas para un QTL que afecta al tamaño de los animales.

**Figura 2.** Distribución de los valores “ $\log_{10}(1/P)$ ” para los caracteres de morfología corporal en el cromosoma OAR16 (análisis across-families)



Según los estudios publicados en el ganado bovino de leche, en relación a caracteres morfológicos o de tipo, no se ha descrito ningún QTL localizado en la región homóloga (cromosoma BTA20) con influencia sobre este tipo de caracteres. Con objeto de confirmar la verdadera naturaleza de esta asociación, sería necesario el análisis de una muestra independiente de hijas de las familias que han mostrado evidencia de segregación. Posteriormente, sería imprescindible un estudio de mapeo fino para comprender la arquitectura genética de esa región, con el fin de poner de manifiesto la mutación causante del efecto detectado.

De todas formas, la localización cercana al efecto detectado del gen del receptor de la hormona del crecimiento “GHR”, señala a éste como un candidato idóneo, y posible responsable del efecto detectado sobre los caracteres aplomos posteriores y estatura. La detección de SNPs en este gen y la posible asociación mediante técnicas de desequilibrio de ligamiento, pueden ayudar a clarificar de forma más precisa la naturaleza de esta asociación y el papel de dicho gen en la misma.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Churchill G.A. & Doerge R.W. (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, **138**: 963-971..
- Coppieters W., Kvasz A., Farnir F., Arranz J. J., Grisart B., Mackinnon M. & Georges M. (1998). A rank-based non parametric method to map QTL in outbred half-sib pedigrees: application to milk production in a grand-daughter design. *Genetics*, **149**: 1547-1555.
- De la Fuente, L.F., Rodríguez, R. & Romo, E.J. (2003). La calificación morfológica en la raza Churra. *Feagas*, **23**: 73-77
- Knott S.A., Eisen J.M. & Haley C.S. (1996). Methods for multiple-marker mapping of quantitative trait loci in half-sib populations. *Theoret Appl Genet*, **93**: 71-80.
- Lander E.S. & Green P. (1987). Construction of multilocus genetic linkage maps in humans. *Proc. Natl Acad Sci USA*, **84**: 2363-2367.
- Maddox J.F., Davies K.P., Crawford A.M., *et al.* (2001.) An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Res*, **11**: 1275-1289.
- Rogers, G. W., Banos, G., Sander Nielsen, U., Philipsson, J. (1998). Genetic correlations among somatic cell scores, productive life, and type traits from the United States and udder health measures from Denmark and Sweden. *J Dairy Sci*, **81**:1445-1453.
- Short, T. H., Lawlor, T. J. (1992). Genetic parameters of conformation traits, milk yield, and herd life in Holsteins. *J Dairy Sci*, **75**:1987-1998.

## **ASOCIACIÓN DE NUEVOS POLIMORFISMOS DEL GEN ÁCIDO GRASO SINTASA (FASN) CON LA CANTIDAD DE GRASA POR LACTACIÓN EN LA ESPECIE VACUNA**

Roy R.<sup>1</sup>, Ordovás L.<sup>1</sup>, Romero A.<sup>1</sup>, Moreno C.<sup>2</sup>, Zaragoza P.<sup>1</sup>, Altarriba J.<sup>2</sup> y Rodellar C.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> LAGENBIO. Laboratorio de Genética Bioquímica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

<sup>2</sup> Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

### **INTRODUCCIÓN**

A pesar de su influencia sobre importantes desordenes en humanos y también sobre parámetros relacionados con la calidad de alimentos de origen animal, existe todavía un desconocimiento sobre la regulación del metabolismo lipídico. Es de todos conocido que los lípidos tienen una gran variedad de funciones celulares; son la principal fuente de almacenamiento de energía en forma de triglicéridos en la mayoría de los organismos así como los principales constituyentes de las membranas celulares (fosfolípidos). La habilidad de sintetizar una determinada variedad de lípidos es esencial en todos los organismos. Los ácidos grasos se obtienen del alimento o bien son sintetizados por el organismo, existiendo grandes diferencias entre la forma de obtener los ácidos grasos en rumiantes y en monogástricos. En rumiantes la síntesis de ácidos grasos se realiza principalmente en el tejido adiposo a partir del acetato, mientras que en monogástricos ocurre fundamentalmente en el hígado, utilizando como precursor la glucosa (Vernon, 1980).

La síntesis de ácidos grasos, principales componentes de triglicéridos y fosfolípidos, se lleva a cabo por un complejo multienzimático llamado Ácido Graso Sintasa (Fatty Acid Synthase, FASN) que juega un papel central en la síntesis de los ácidos grasos en mamíferos (Wakil et al. 1983). Esta enzima cataliza las siete reacciones necesarias para la síntesis de palmitoil-CoA a partir de acetil-CoA y malonil-CoA en presencia de NADPH.

En nuestro laboratorio se ha llevado a cabo la caracterización de la FASN en la especie bovina. El gen tiene una secuencia de 18 Kb y está estructurado en 42 exones y 41 intrones, el transcrito tiene unas 8 Kb y codifica para una proteína de 2507 aminoácidos. Se ha caracterizado así mismo la región promotora del gen y las regiones no traducidas 5' y 3' (Roy et al., 2005)

También se ha realizado el mapeo físico del gen en el cromosoma 19 (19q22) y el mapeo genético entre los marcadores BL1006 Y BMS1069 (Roy et al., 2001; Roy et al., 2005). En esta región se han detectado varios QTLs relacionados con el porcentaje de grasa en la leche (Boichard et al., 2003; Falaki et al., 1997), porcentaje de grasa en la carne (Taylor et al., 1998), contenido de grasa subcutánea (Kim et al., 2003) y grasa dorsal (Li et al 2003).

El objeto de esta comunicación es analizar la posible asociación entre la variabilidad del gen FASN, y la cantidad de grasa por lactación en la especie bovina.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han detectado varios polimorfismos (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) en diferentes regiones del gen, de los cuales hemos elegido dos para iniciar esta línea de investigación. El SNP $FASN1$  supone un cambio A/G y afecta al primer nucleótido

del triplete generando un cambio de aminoácido Thr/Ala. Este cambio de aminoácido podría afectar la estructura global de la FASN viéndose modificada así su actividad enzimática. El SNPFASN2 que origina un cambio G/C está localizado en la zona reguladora de expresión del gen. El alelo G forma parte de un sitio de reconocimiento del factor de transcripción SP1, mientras que el alelo C hace que este sitio de reconocimiento se anule.

Para ello se han utilizado dos tipos de muestras. En primer lugar se muestrearon 100 animales pertenecientes a dos razas vacunas (50/50) con características de engrasamiento diferentes (Asturiana de los Valles y Frisona). Por otra parte, el estudio de asociación entre este locus y la producción de grasa se ha realizando a partir de sendas muestras obtenidas en las colas de la distribución de los índices de selección para el carácter producción de grasa por lactación de las vacas de raza Frisona explotadas en Aragón. A través de la Asociación de Productores de Leche de Aragón (APLA) se dispuso de la identificación de los animales en producción, su ubicación y de los índices de selección elaborados por CONAFE. El muestreo se centró en 4 explotaciones con unos efectivos totales de 5.248 vacas, de las cuales 2.573 presentaban un valoración genética para el carácter de interés con una fiabilidad mínima del 47%. La muestra finalmente obtenida estaba compuesta por 211 vacas, de las cuales se obtuvo un muestra de sangre mediante punción de la vena coccígea.

El genotipado se ha realizado mediante una PCR alelo específica en tiempo real utilizando metodología SYBR green. Para cada uno de los SNPs se han diseñado tres primers: un primer reverso común y 2 primers directos que difieren únicamente en el nucleótido del extremo 3'. La PCR alelo específica se ha llevado a cabo en 2 pooles de 50 animales en el primer tipo de muestras. A partir del DNA inicial se han preparado diluciones a 100 ng/μl que se normalizan posteriormente a 50ng/μl. La cuantificación individual de las muestras se lleva a cabo mediante mediciones repetidas de la absorbancia a 260nm. Y los pooles se constituyen finalmente añadiendo 10 μl de cada uno de los 50 DNA hasta un volumen final de 500μl. En el segundo tipo de muestras, el genotipado se ha realizado individualmente en cada uno de los 211 animales.

## RESULTADOS

Las frecuencias génicas obtenidas para los alelos de ambos SNPs han presentado diferencias significativas entre las razas Asturiana de los Valles y Frisona (Tabla 1)

**Tabla 1. Frecuencias génicas y significación de la comparación entre razas**

	SNPFASN1		SNPFASN2	
	Alelo A	Alelo G	Alelo C	Alelo G
Asturiana de los Valles	0,300	0,700	0,295	0,705
Frisona	0,060	0,940	0,517	0,483
Significación (p)	<0,001		<0,010	

Como se muestra en las Tablas 2 y 3, cuando los SNPs son estudiados en los 2 grupos de animales pertenecientes a las colas de la distribución para el carácter cantidad de grasa en la leche, las frecuencias génicas obtenidas han mostrado igualmente diferencias significativas entre los dos grupos de animales estudiados.

Si bien no podemos asegurar que la FASN representa un QTL para la cantidad de grasa, los resultados obtenidos permiten proponer a dicho gen como un firme

candidato a QTL para la cantidad de grasa. Especialmente significativo puede resultar el hecho de que el *SNPFASN2* se encuentre en la zona reguladora de la expresión y que suponga la existencia o no de un sitio de unión a un factor de transcripción. Las diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de las dos razas analizadas, así como la significación observada en las diferencias entre los dos grupos con alto y bajo contenido en grasa, unido al papel clave de la enzima en el metabolismo lipídico y su localización en BTA19 (19q22), avalan la propuesta de la *FASN* como QTL de la grasa de la leche.

**Tabla 2. Relación entre BLUP para grasa y genotipos del locus *SNPFASN1***

Grasa		A/A	A/G	G/G	Total	q(G)	Sig.(p)
Alta	N	0	24	91	115	0,896	0,057
	Media		44,8	45,3	45,2	±0,020	
	Min/Max		39/63	39/62	39/63		
Baja	N	3	25	61	89	0,826	±0,028
	Media	-25,3	-24,4	-24,4	-24,8		
	Min/Max	-37/-17	-49/-17	-53/-17	-53/-17		
Total	N	3	49	152	204	0,865	0,060
	Media	-25,3	9,5	17,2	14,7	±0,017	
	Min/Max	-37/-17	-49/63	-53/62	-53/63		

**Tabla 3. Relación entre BLUP para grasa y genotipos del locus *SNPFASN2***

Grasa		C/C	C/G	G/G	Total	q(G)	Sig.(p)
Alta	N	27	59	31	117	0,517	0,010
	Media	45,7	45,4	44,3	45,2	±0,033	
	Min/Max	39/62	39/63	39/54	39/63		
Baja	N	9	46	39	94	0,660	±0,035
	Media	-27,7	-24,1	-24,1	-24,4		
	Min/Max	-53/-17	-48/-17	-49/-17	-53/-17		
Total	N	36	105	70	211	0,581	0,013
	Media	27,4	15,0	6,2	14,2	±0,024	
	Min/Max	-53/62	-48/63	-49/54	-53/63		

## AGRADECIMIENTOS

A D. Javier Aparicio, gerente del APLA, y a las empresas ganaderas en las cuales se realizó el muestreo: Granja San José S.A., Tauste Ganadera S.A., Robres Fuertes S.C. y la de D. Jorge Berges Valdecara.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boichard D, Grohs C, Bourgeois F, Cerqueira F, Faugeras R, Neau A, Rupp R, Amigues Y, Boscher MY, Leveziel H. (2003). *Genet Sel. Evol* 35:77-101.
- Falaki M, Prandi A, Corradini C, Sneyers M, Gengler N, Massart S, Fazzini U, Burny A, Portetelle D, Renaville R. *J Dairy Res.* 1997 Feb;64(1):47-56.
- Kim JJ, Farnir F, Savell J, Taylor JF. (2003). *J Anim Sci.* 81(8):1933-42.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Kneeland J, Murdoch B, Hansen C, Moore SS. *J Anim Sci.* 2004 Apr;82(4):967-72.
- Roy R, Gautier M, Hayes H, Laurent P, Osta R, Zaragoza P, Eggen A, Rodellar C. (2001) *Cytogenet Cell Genet.* 2001;93(1-2):141-2.
- R. Roy, M. Gautier, P. Zaragoza, A. Eggen, and C. Rodellar (2005). *Animal Biotechnology* (en prensa, Mayo 2005)
- Taylor JF, Coutinho LL, Herring KL, Gallagher DS, Jr., Brenneman RA, Burney N, Sanders JO, Turner JW, Smith SB, Miller RK, Savell JW, Davis SK. (1998). *Anim Genet* 29:194-201.
- Vernon, RG (1980). *Biochem Soc Trans* 8:291-292.



## CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS EN EL GEN DE LA β-LACTOGLOBULINA CAPRINA

Maria Ballester, Armand Sánchez y Josep M Folch  
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat  
Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

### INTRODUCCIÓN

La β-lactoglobulina (βLG) es la proteína sérica más abundante en la leche de los rumiantes. Está presente en la leche de numerosos mamíferos con la excepción del hombre, los lagomorfos y los roedores. En la especie bovina se han caracterizado un total de 11 variantes genéticas, encontrándose las variantes A y B distribuidas por todas las poblaciones bovinas y cebúes. Estas dos variantes genéticas (A y B) han sido asociadas con un efecto importante en la composición de la leche y el rendimiento quesero (Ng-Kwai-Hang y Grosclaude, 1992). En la oveja se han caracterizado tres variantes genéticas (A, B y C; Gaye *et al.*, 1986; Erhardt, 1989), siendo la variante A la más frecuente. Aunque se han realizado diferentes estudios sobre el efecto de estos polimorfismos en la composición y producción láctea, no se ha establecido ninguna asociación como en la especie bovina. Por último, aunque en la leche de algunas razas de cabra se ha descrito la existencia de variabilidad proteica para la βLG, no se ha caracterizado ninguna variante genética que afecte a la región codificante del gen.

El objetivo principal de este trabajo ha sido la identificación y caracterización de polimorfismos genéticos en el gen de la βLG caprina. Se han detectado un total de 15 polimorfismos en la región promotora y en los exones 1, 2, 3 y 6 del gen de la βLG en distintas razas caprinas. Asimismo, se ha desarrollado un protocolo de genotipado rápido por pirosecuenciación para 4 mutaciones de la región promotora, genotipándose 200 cabras pertenecientes a 11 razas distintas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Material Animal:** Se utilizó ADN extraído de muestras de sangre de 200 cabras pertenecientes a las razas: Alpina (n=22, Francia), Saanen (n=22, Suiza), Malagueña (n=21, España), Murciano-Granadina (n=21, España), Tinerfeña (n=14, España), Palmera (n=14, España), Majorera (n=11, España), Teramana (n=22, Italia), Girgentana (n=19, Italia), Cachemir (n=18, Asia) y Sahel (n=16, Senegal).

**Amplificación del gen de la βLG caprina:** A partir del ADN genómico de diferentes animales se amplificaron dos fragmentos solapados del gen de la βLG caprina. Los *primers* GOAPF3 y Goat11R (Tabla 1) amplificaron un fragmento de 833 pb que incluía la región promotora proximal (588 bp), el exón 1 y parte del intrón 1. Los *primers* GOAPF1 y BLG7 fueron utilizados para amplificar un fragmento de 4854 pb que contenía toda la región codificante del gen. Las condiciones de la reacción de PCR fueron: 1x PCR buffer, 1mM-MgCl<sub>2</sub> para el fragmento de 833 pb o 1.5 mM-MgCl<sub>2</sub> para el fragmento de 4854 pb, 200 μM dNTPs, 0.3 μM de cada *primer*, 2.6 U *Expand High Fidelity PCR* (Roche) y 125 ng de ADN genómico en un volumen final de 50 μl. El perfil térmico utilizado para el fragmento de 4854 pb fue: 95°C 3 min, 10 ciclos de 95°C 30s, 70°C 1 min y 72°C 2.5 min, seguido de 25 ciclos de 95°C 30s, 70°C 1 min y 72°C 2.5 min (aumentando 20s la extensión en cada ciclo). Finalmente una extensión a 72°C durante 10 min. El perfil térmico para el fragmento de 833 pb

fue similar con la excepción de la temperatura de *annealing* (60°C) y el tiempo de extensión (1.5 min).

**Secuenciación del producto amplificado e identificación de polimorfismos:** Los fragmentos amplificados fueron purificados con *QIAquick PCR Purification Kit* (QIAGEN) y posteriormente secuenciados mediante el *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* en el ABI PRISM 3100 Avant (Applied Biosystems). Los *primers* utilizados para la secuenciación fueron: GOAPF3, GoatE1R2, GoatI1R, GoatI1F, GoatI3R y GoatI6R (Tabla 1). El análisis de la secuencias se realizó mediante el programa MultAlin (Corpet, 1988).

**Genotipado mediante pirosecuenciación:** Se amplificó un fragmento de 181 pb de la región promotora proximal utilizando los *primers* BLGP-Fpyro y BLGP-Rpyro. Las condiciones de la reacción de PCR fueron: 1x PCR buffer, 1.5 mM-MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dNTPs, 0.5 μM de cada *primer*, 0.625 U de Taq DNA polimerasa (Life Technologies) y 125 ng de ADN genómico en un volumen final de 25 μl. El perfil térmico utilizado fue: 95°C 5 min, 35 ciclos a 95°C 30 s, 60°C 1 min, y 72°C 1.5 min, con una extensión final de 72°C 5 min. El genotipado se realizó utilizando el kit SNP (Pyrosequencing AB) a partir de 20 μl de cada PCR. Los *primers* utilizados fueron diseñados sobre la cadena *forward*: BLG SNP134-114 y BLG SNP64-60.

Tabla 1. *Primers* utilizados

<i>Primer</i>	Posición <sup>1</sup>	Tamaño (bp)	Secuencia (5'-3')
GOAPF3	promotor (-588)	20	GTCACCTTCCCGTCTGGGG
BLGP-Fpyro	promotor (-159)	22	TGGAAGAAGGCCTCCTATTGTC
BLG SNP134-114	promotor (-149)	16	GGCCTCCTATTGTCCT
BLG SNP64-60	promotor (-81)	13	CTCGTGGCTGGGG
BLGP-Rpyro	exón 1 (1)	21	biotin-CTTCTGAGCTCTGCAGGGAGT
GoatE1R2	exón 1 (100)	22	GCCTTTCATGGTCTGGGTGACG
GoatI1R	intrón 1 (226)	20	GCTGCCCTAGCTGACTGATG
GoatI1F	intrón 1 (675)	20	CATCCCCAGGGTGCCAGAT
GoatI3R	intrón 3 (1960)	21	TCATCACCACCAGCCCTTAG
GoatI3F	intrón 3 (2900)	20	GCTGGTCGTGGAGGGTGCTG
GoatI6R	intrón 6 (4203)	20	GACCCAGGGCCTAATGTGG

<sup>1</sup>Se indica utilizando como referencia la secuencia del gen de la β-Ig caprina (Folch *et al.*, 1994).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El fragmento amplificado (833 pb) de la región promotora del gen de la βLG fue secuenciado en dos animales de cada raza caprina (véase material y métodos) con la excepción de la raza Majorera. El alineamiento de estas secuencias permitió la identificación de 9 polimorfismos (Tabla 2), ocho de los cuales eran sustituciones nucleotídicas y uno una delección/inserción de un nucleótido. Los polimorfismos -341 y -60 han sido previamente caracterizados en distintas razas caprinas (Graciano *et al.*, 2003; Yahyaoui *et al.*, 2000, respectivamente). Dos de los nuevos polimorfismos caracterizados (posiciones -118 y -64) se encuentran localizados sobre la secuencia consenso de unión del factor de transcripción AP-2.

Con el fin de realizar un genotipado rápido de 4 de las mutaciones caracterizadas en esta región promotora: -134, -118, -64 y -60 se utilizó la técnica de pirosecuenciación. Se genotiparon un total de 200 animales de distintas razas. La

mutación -64 (G/A) resultó ser específica de las razas italianas (Girgentana y Teramana). El otro polimorfismo que afectaba a la región consenso de unión de la AP-2 (-118), se encontró exclusivamente y en baja frecuencia en las razas Alpina, Saanen y Malagueña. Las otras dos posiciones polimórficas se encontraron ampliamente distribuidas entre las distintas razas. A continuación se investigó la asociación de estos 4 polimorfismos, encontrándose 5 de los 16 haplotipos teóricos. El haplotipo GCGC fue considerado el ancestral debido a que se encontró en todas las razas analizadas con una frecuencia de 0.70.

Tabla 2. Polimorfismos en el gen de la  $\beta$ LG caprina

Localización	Posición	Polimorfismo	Raza
promotor	-341	T/C	Gir, Alp, Saa, Tin, Mur, Cac, Sah
	-283	C/T	Ter, Pal, Mur
	-197	G/A	Mal, Cac
	-134	G/T	Ter, Pal, Mur
	-118	C/T	Alp
	-114	-/G delección/inserción	Gir, Alp, Tin, Mur, Cac, Sah
	-64	G/A	Gir
	-60	C/T	Ter, Saa, Mur
	-22	G/A	Cac
	exón 1	100	C/T
121		C/T	Pal
exón 2	834	G/A	Alp
	840	C/T	Ter, Saa, Mur, Mal
exón 3	1806	C/T	Gir, Alp, Saa, Tin, Pal
exón 6	4122	T/C	Gir, Ter, Alp, Saa, Tin, Pal, Mur, Mal

Gir: girgentana; Ter: teramana; Alp: alpina; Saa: saanen; Tin, tinerfeña; Pal: palmera; Mur: murciano-granadina; Mal: malagueña; Cac: cachemir; Sah: sahel.

Por último y con el fin de detectar polimorfismos en la región codificante del gen de la  $\beta$ LG caprina, se secuenciaron dos animales de cada raza (con la excepción de las razas Sahel y Cachemir) para el fragmento amplificado de 4854 pb. El análisis de las secuencias reveló la existencia de 6 sustituciones nucleotídicas (Tabla 2), cinco de las cuales se encontraron en la región codificante para la proteína. Todas las mutaciones fueron sinónimas.

En el presente trabajo se han caracterizado un total de 15 polimorfismos distribuidos entre la región promotora proximal y los seis primeros exones del gen de la  $\beta$ LG caprina. Aunque hacen falta más estudios para determinar como afectan estos polimorfismos en la expresión del gen de la  $\beta$ LG, estas mutaciones pueden ser utilizadas como marcadores moleculares en estudios de asociación con caracteres de producción láctea.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Corpet F (1988) *Nucleic Acids Research* 16, 10881-10890  
 Erhardt G (1989) *Animal Genetics* 20, 197-204  
 Folch et al (1994) *Journal of Dairy Science* 77, 3493-3497  
 Gaye et al (1986) *Biochimie* 67, 1097-1107  
 Graziano et al (2003) *Italian Journal of Animal Science* 1, 65-68  
 Ng-Kwai-Hang and Grosclaude (1992) In: *Advanced Dairy Chemistry-1. Proteins* pp.405-455 (Ed.PF Fox) London:Elsevier Applied Science  
 Yahyaoui et al (2000) *Journal of Animal Science* 78, 1100-1101  
Trabajo financiado con el proyecto CICYT (AGL2000-0687) y con beca F.I. a Maria Ballester (AGAUR, Generalitat de Catalunya).

## ESTUDIO DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DE LA $\beta$ -LACTOGLOBULINA EN LA RAZA MERINA Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN LECHERA<sup>1</sup>

<sup>a</sup>Corral J. M., <sup>a\*</sup>Izquierdo M., <sup>b</sup>González J., <sup>c</sup>Parejo J. C., <sup>c</sup>Rabasco A., <sup>c</sup>Martínez M.,  
<sup>c</sup>Sansinforiano E., <sup>c</sup>Padilla J. A.

<sup>a</sup>Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Junta de Extremadura. Finca La Orden, Nacional V, Km 374, Guadajira 06071 (Badajoz). <sup>b</sup>Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Carretera de Cáceres s/n. 06071 (Badajoz). <sup>c</sup>Genética y Mejora Animal, Facultad de Veterinaria, Avenida de la Universidad s/n, 10071 (Cáceres).  
Correspondencia dirigida, E-mail: [mercedes.izquierdo@aym.juntaex.es](mailto:mercedes.izquierdo@aym.juntaex.es)

### INTRODUCCIÓN

En Extremadura se ordeñan aproximadamente medio millón de ovejas cuya producción lechera se destina básicamente a la producción de queso. Estos quesos, se comercializan bajo las Denominaciones de Origen “Queso de la Serena”, “Torta del Casar”, que utilizan para su elaboración exclusivamente leche cruda de oveja de raza Merina. En los últimos años se han realizado diferentes estudios encaminados a mejorar la producción, la calidad de la leche (Izquierdo *et al.*, 2003 a, b) y las propiedades tecnológicas del queso. El conocimiento de la influencia que sobre la producción y composición de la leche pueden tener las variantes genéticas de loci que codifican proteínas lácteas ha suscitado un gran interés debido a sus potenciales aplicaciones tanto tecnológicas (Amigo *et al.*, 2000) como para la selección asistida por marcadores.

En este estudio se pretende determinar las variantes alélicas del gen de la  $\beta$ -lactoglobulina (LGB) en las distintas líneas de la raza Merina, y conocer la posible influencia de los diferentes genotipos de este locus (AA, AB y BB) sobre caracteres de producción y calidad de la leche.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha extraído el ADN de muestras de sangre de 707 animales pertenecientes a 9 de las líneas descritas en la raza Merina. La determinación de los diferentes genotipos del gen LGB se realizó mediante PCR-RFLP siguiendo la metodología de Schlee y Rottmann (1992). El fragmento obtenido, después de la amplificación, de 236 pb, desde el intron I al exon II del gen de la  $\beta$ -lactoglobulina ovina, fue digerido con RsaI. Una mutación puntual en la posición 20, de una T por una C, cambia el codón TCA (Tyr) (Alelo A) por CAC (His) (alelo B), suprimiendo además la diana de restricción RsaI (GT/AC). En los animales homocigóticos el tamaño de los fragmentos fue de 148, 66 y 22 pb para el genotipo AA y de 214 y 22 pb para el BB. Los animales heterocigóticos AB presentaron todos los fragmentos anteriores.

Para evaluar el efecto del genotipo sobre los caracteres de producción de leche: producción al primer control (PPC) en ml, cantidad de leche total producida por lactación (PL) en litros (calculada mediante el método Fleischmann), cantidad total estandarizada a 120 días (PLS), y la duración de la lactación (DL) en días, se han analizado 438 lactaciones correspondientes a 129 ovejas de la línea Perales criadas en la Finca Valdesequera (Junta de Extremadura), obtenidas durante los años 1999-2004 y distribuidas en 12 parideras, dos tipos de parto y 8 clases para la edad de la madre. Los datos se analizaron con un modelo mixto utilizando el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1998). El modelo utilizado para cantidad de leche fue el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + T_i + bX_j + P_k + Ed_l + Gen_m + Oveja_n + e_{ijklmno}$$

Donde  $Y$  es el valor de cada uno de los caracteres de la producción de leche:  $\mu$  es la media de la producción de leche,  $T_j$  es tipo de parto,  $bX_j$  es la covariable del efecto intervalo parto-destete,  $P_k$  es la paridera,  $Ed_i$  es la edad de la oveja al parto,  $Gen_m$  es el genotipo para el gen  $\beta$ -lactoglobulina,  $Oveja_n$  es el efecto aleatorio de la oveja y  $e_{ijklmno}$  es el error residual que incluye los efectos del ambiente asociado con cada animal.

Para evaluar el efecto del genotipo sobre los caracteres de calidad de la leche: porcentajes de proteína (% P), grasa (% G), lactosa (% L) y extracto seco total (% EST), se han analizado un total de 763 controles correspondientes a los años 1999-2004 de 107 ovejas distribuidos en 11 parideras, 2 tipos de parto, 8 clases de edad de la hembra y 44 fechas de control. El modelo utilizado para analizar los datos de calidad fue el siguiente:

$$Y_{ijklmno} = \mu + T_j + bX_j + P_k + Ed_i + Gen_m + F(P)_{kn} + Oveja_n + e_{ijklmno}$$

Donde  $Y$  es el valor de cada uno de los caracteres de la calidad de leche:  $\mu$  es la media,  $T_j$  tipo de parto,  $bX_j$  es la covariable del efecto intervalo parto-destete,  $P_k$  paridera,  $Ed_i$  es la edad de la oveja al parto,  $Gen_m$  el genotipo para el gen  $\beta$ -lactoglobulina,  $F(P)_{kn}$  es el efecto fecha de control dentro de la paridera  $n$ ,  $Oveja_n$  es el efecto aleatorio de la oveja y  $e_{ijklmno}$  es el error residual.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las tres variantes alélicas descritas para la  $\beta$ -lactoglobulina ovina, los alelos A y B están presentes en todas las líneas de Merino analizadas, mientras que no se ha encontrado el alelo C. Este alelo es poco frecuente y confinado en unas pocas razas (Amigo et al., 2000). La distribución de los dos alelos del locus de la  $\beta$ -lactoglobulina en las diferentes líneas de Merino analizadas se describe en la Tabla 1. Excepto para el Merino negro, donde el alelo más frecuente es el B, los resultados indican una mayor frecuencia del alelo A (0,6160). No obstante, se ha obtenido una mayor frecuencia génica del alelo B en la variedad blanca y negra de Merino (Ramos et al., 2002), y en la raza Churra (Gutiérrez et al., 2001).

Tabla 1. Distribución de los animales por genotipo y frecuencias génicas del locus de la  $\beta$ -LGB en la raza Merina. (n = tamaño muestra)

Línea Merino	Genotipo			Frecuencias génicas		
	AA	AB	BB	A	B	HWE*
Granda (n = 61)	27	29	5	0,6803	0,3197	0,4677
Hidalgo (n = 70)	26	31	13	0,5929	0,4071	0,4893
Jordan (n = 56)	20	24	12	0,5714	0,4286	0,3496
Lamex (n = 58)	24	28	6	0,6552	0,3448	0,6023
L. Montenegro (n = 58)	19	27	12	0,5603	0,4397	0,6742
Merino Común (n = 184)	60	89	35	0,5679	0,4321	0,8450
Merino Negro (n = 25)	4	15	6	0,4600	0,5400	0,2990
Perales (n = 148)	77	58	13	0,7162	0,2838	0,6620
Serena (n = 47)	18	20	9	0,5957	0,4043	0,4243
<b>Total (n = 707)</b>	<b>275</b>	<b>321</b>	<b>111</b>	<b>0,6160</b>	<b>0,3840</b>	<b>0,2839</b>

\*valores de p derivados del test  $\chi^2$

Los análisis equilibrio Hardy-Weinberg no detectan desviación del equilibrio en ninguna de las líneas de Merino analizadas.

Las medias mínimo cuadráticas de los caracteres de producción y calidad de leche para cada genotipo, se muestran en las Tablas 2 y 3, respectivamente. Aunque, el efecto del genotipo no resultó significativo para ninguna de las variables estudiadas, podría existir una tendencia a una mayor producción de leche en los individuos de genotipo (BB). Este genotipo

se ha asociado con alta producción de leche en las razas Sarda (Bolla et al., 1989) y Massese (Rampilli et al., 1997).

Tabla 2. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de producción de leche para los diferentes genotipos de BLG.

<i>Genotipo</i>	N	PPC ± SE	PL ± SE	PLS ± SE	DL ± SE
<b>AA</b>	219	488 ± 39,0	56,1 ± 5,3	44,0 ± 3,8	100,3 ± 3,6
<b>AB</b>	164	488 ± 40,2	55,0 ± 5,5	45,4 ± 4,0	100,0 ± 3,6
<b>BB</b>	55	540 ± 65,2	61,4 ± 8,9	47,8 ± 6,3	103,7 ± 6,5

Los resultados experimentales obtenidos en otras razas en relación con la influencia del gen LGB sobre la calidad de leche son muy variables, de forma que no es posible obtener conclusiones definitivas. En este sentido, existen diferencias entre autores dependiendo del número de animales analizados, de la raza estudiada y del modelo estadístico aplicado.

Tabla 3. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de calidad de leche para los diferentes genotipos de BLG.

<i>Genotipo</i>	N	% P ± SE	% G ± SE	% L ± SE	% EST ± SE
<b>AA</b>	358	6,4 ± 0,1	7,6 ± 0,22	4,4 ± 0,07	19,0 ± 0,3
<b>AB</b>	317	6,4 ± 0,1	7,4 ± 0,21	4,5 ± 0,07	19,0 ± 0,3
<b>BB</b>	88	6,2 ± 0,1	7,4 ± 0,31	4,5 ± 0,10	18,8 ± 0,4

Los resultados preliminares de este trabajo parecen indicar que en la raza Merina, no hay una asociación entre la calidad y la cantidad de la leche y el genotipo de la LGB, aunque habrá que esperar al final de estudio para ser más concluyente.

## REFERENCIAS

- AMIGO, L., RECIO, I., RAMOS, M. (2000) Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk a review. *International Dairy Journal* 10: 135-149.
- BOLLA, P., CAROLI, A., MEZZELANI, A., RIZZI, R., PAGNACCO, G., FRAGHI, A., CASU, S., (1989) Milk protein markers and production in sheep. *Animal Genetics*, 20 (Suppl. 1), 78-79.
- GUTIÉRREZ, B., ARRANZ, J. J., OTHMANE, M. H., DE LA FUENTE, L. F., SAN PRIMITIVO, F. (2001) Influencia del genotipo de la  $\beta$ -lactoglobulina ovina sobre caracteres cualitativos y rendimiento quesero individual en la raza Churra. Congreso AIDA 2001.
- IZQUIERDO, M., GONZÁLEZ CRESPO, J., ROA, I., GONZÁLEZ, A., HERNÁNDEZ, F. I., GARCÍA, S. (2003a) Análisis de los componentes grasos y proteicos de la leche de oveja Merina en condiciones semiextensivas; resultados preliminares. Congreso SEOC 2003.
- IZQUIERDO, M., JIMÉNEZ A., GONZÁLEZ, A., GARCÍA, S., HERNÁNDEZ, F. I., (2003b) Producción láctea de ovejas Merinas en condiciones semiextensivas. Congreso SEOC 2003.
- RAMOS, A. M., MATOS, A., BETTENCOURT, C., PINHEIRO, C., RANGEL-FIGUEIREDO, T. (2002) Influence of  $\alpha$ s1-casein,  $\beta$  -lactoglobulin and prolactin genotypes on milk production traits in two portuguese sheep breeds. 7 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, (France).
- RAMPILLI, M., CECCHI, F., GIULIOTTI, L., CATTANEO, T. M. P. (1997) The influence of  $\beta$ -lactoglobulin genetic polymorphism on protein distribution and coagulation properties in milk of Massese breed ewes. In *Milk polymorphism* (pp. 311-315). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
- SAS User's Guide, Release 6.12. 1998. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SCHLEE, P., ROTTMANN, O. (1992) Sheep  $\beta$ -lactoglobulin: Determination of alleles A and B by PCR and RFLP analysis using plucked hair as a source of DNA. In: *Genetic Conservation of Domestic Livestock*, Vol.2, C.A.B. International, Wallingford, UK, Chapter 24, 243-246.

## EFECTO DEL LOCUS CSN1S1 SOBRE LA COMPOSICIÓN PROTEÍCA Y EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE CABRA DE RAZA MALAGUEÑA. (UN ANÁLISIS LONGITUDINAL).

Pastora Agüera<sup>(1)</sup>, Cristina Aranda<sup>(2)</sup>, Marcel Amills<sup>(2)</sup>, Alberto Menéndez-Buxadera<sup>(3)</sup>, Alfonso Sánchez<sup>(4)</sup> y Juan M. Serradilla<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departamento de Producción Animal. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Apdo. 3048. 14070 Córdoba.

<sup>(2)</sup> Unité de Recherches Zootechniques. INRA. Domaine Duclos, Prise d'Eau 97170 Petit Bourg, Guadeloupe (FWI).

<sup>(3)</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra (Barcelona).

<sup>(4)</sup> Asociación Española de Criadores de la Cabra Malagueña. El Pozuelo s/n. 29160 Casabermeja (Málaga).

### INTRODUCCIÓN

El efecto del polimorfismo del locus CSN1S1 sobre la concentración de caseína  $\alpha_{s1}$  en la leche de cabra ha sido ampliamente estudiado en las razas francesas Alpina y Saanen y en otras razas europeas, definiéndose cuatro grupos de alelos: los de contenido alto (A, B y C), con un elevado nivel de síntesis de caseína  $\alpha_{s1}$ , el alelo E de contenido medio, los alelos F y G, con un efecto bajo y el alelo nulo (O) cuya aportación de caseína  $\alpha_{s1}$  es nula. (Grosclaude y Martín, 1997; Martín *et al.* 1999). Se ha demostrado que este polimorfismo genético tiene también un importante efecto sobre la concentración de proteína y sobre las propiedades tecnológicas de la leche de cabra, pudiendo ser utilizadas sus variantes como marcadores para la selección (véase revisión de Manfredi, 2003).

Trabajos anteriores sobre el efecto de este polimorfismo en la raza caprina Malagueña (Angulo *et al.*, 2002; Agüera y col. 2003a) mostraron una ordenación de los genotipos respecto a los contenidos en proteína, caseína total y caseína  $\alpha_{s1}$  similar a la observada en las razas francesas, pero no exactamente los mismos efectos cuantitativos.

Justificamos la realización de este trabajo para obtener un conocimiento más profundo acerca de los efectos del locus CSN1S1 sobre los parámetros de composición (proteína, caseína total y grasa) de la leche de cabras de raza Malagueña, aumentando el número de cabras controladas e incluyendo variables que hasta ahora no se habían estudiado, como el contenido en caseína  $\alpha_{s2}$  y el recuento celular somático.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo con 128 cabras en segunda o tercera lactación, distribuidas en 8 rebaños pertenecientes a la Asociación de Criadores de la Raza Caprina Malagueña, con una distribución por genotipos de 12 cabras BB, 27 BF, 75 EE y 14 FF. Se recogieron muestras de leche de estas cabras en al menos cuatro momentos distribuidos más o menos uniformemente a lo largo de la lactación. La determinación del genotipo de la caseína  $\alpha_{s1}$  se realizó en el Servei Veterinari de Genètica Molecular de la Universitat Autònoma de Barcelona, según el método descrito por Amills (1996).

Para la obtención de los valores de las variables en estudio se utilizó un espectrofotómetro monocromador de espectro continuo Foss-NIRSystems 6500 SY I, previamente calibrado (Agüera y col. 2003b,c).

El análisis de los datos se realizó con el procedimiento MIXED del SAS (2001) con el siguiente modelo:  $Y = XB + Z1 U1 + Z2 U2 + E$ ; donde X es la matriz de incidencia de los efectos fijos genotipo (G), rebaño-año-estación (RAE) y edad de la cabra (se ha preferido este efecto al número de parto o lactación por ser más fiable y estar ambos altamente correlacionados); B es el vector de estos efectos fijos y Z1 y Z2 son las matrices de incidencias correspondientes a la parte aleatoria del modelo que describe la evolución de cada variable a lo largo de la lactación de cada cabra mediante la covariable intervalo entre el parto y la fecha de control (IPC), con un elemento para la intersección U1 y otro para los coeficientes de los términos de primer y segundo grado U2. E es el vector de errores residuales.

De este modo no solamente se determinaron los efectos fijos que actúan significativamente sobre las variables, si no que también se determinó si el genotipo tiene un efecto significativo sobre la evolución de cada variable a lo largo de la lactación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El orden de los diferentes genotipos, en lo que a todas las componentes estudiadas se refiere, coincide con los encontrados en los trabajos realizados en razas caprinas francesas (Ricoardeau *et al.* 2000; Barbieri *et al.* 1995). Este resultado confirma estimaciones anteriores realizadas en esta misma raza por Angulo y col. (2002).

Es importante señalar que los contenidos medios de proteína que aparecen en la Tabla 1 son superiores a las estimadas por Barbieri *et al.* (1995) para los genotipos altos (32,18), medios (28,80) y bajos (27,63) en las razas francesas Alpina y Saanen. Lo mismo ocurre si comparamos los resultados de contenido de caseína total en la raza Malagueña (Tabla 1) con los obtenidos por Remeuf *et al.* (1993): 26,80; 22,80 y 20,79 g/kg para los genotipos altos, medios y bajos, respectivamente. También resaltamos el menor contenido de caseína total del genotipo BF respecto al EE, resultado similar al estimado por Angulo *et al.* (2002).

Tabla 1. Medias mínimo cuadráticas y sus correspondientes errores típicos (en g/kg excepto en el caso del RCS que son unidades) obtenidas para las variables en estudio. (Medias con la misma letra de superíndice no son significativamente diferentes al nivel del 5% o inferior).

Genotipos CSN1S1 (N,n) <sup>(1)</sup>	Proteína	Caseína	Caseína $\alpha_{s1}$	Caseína $\alpha_{s2}$	Grasa	RCS (x 1000)
BB (18,5)	37,74±1,44	32,21 <sup>a</sup> ±1,278	6,94±0,38	2,65±0,13	57,60±2,87	1322,271±1,247
BF(54,15)	34,52 <sup>a</sup> ±0,85	29,94 <sup>a</sup> ± 0,75	5,36±0,22	2,35 <sup>a</sup> ±0,07	48,72 <sup>a</sup> ±1,66	787,094 <sup>a</sup> ±1,139
EE(194,55)	34,17 <sup>a</sup> ±0,49	30,13 <sup>a</sup> ± 0,43	4,58±0,13	2,32 <sup>a</sup> ±0,04	50,17 <sup>a</sup> ±0,98	898,560 <sup>a</sup> ±1,080
FF(39,10)	33,14 <sup>a</sup> ±1,03	29,44 <sup>a</sup> ± 0,91	3,98±0,27	2,27 <sup>a</sup> ±0,09	47,72 <sup>a</sup> ±1,98	778,075 <sup>a</sup> ±1,175
Efectos significativos en el modelo al nivel del 5% o inferior	G	--	G	G	G	G
	RAE <sup>(2)</sup>	RAE	RAE	RAE	RAE	RAE
	Edad	Edad	--	Edad	Edad	Edad
	IPC <sup>(3)</sup>	IPC	--	IPC	--	IPC
	IPC <sup>2</sup>	--	--	--	--	--
	Intersec.	Intersec.		Intercec.		Intersec.

<sup>(1)</sup> N es el número de observaciones totales que han intervenido en el análisis y n el número de cabras a las que corresponden.

<sup>(2)</sup> RAE: Combinación de efectos rebaño, año de parto y estación de parto.

<sup>(3)</sup> IPC: Intervalo entre el parto y la fecha de control (número de quincenas).

En cuanto a los contenidos medios de caseína  $\alpha_{s1}$  asociados a los diferentes genotipos, de nuevo, el contenido medio en las cabras de la raza Malagueña vuelve a ser superior al estimado en las razas francesas. Las diferencias entre genotipos han resultado significativas para todos los grupos. Sin embargo, estas diferencias tan marcadas en el contenido de caseína  $\alpha_{s1}$  no se corresponde con las diferencias mucho menores en contenido de caseína total, seguramente debido a posibles variaciones en los contenidos de caseínas  $\beta$  y  $\kappa$ . Sabemos que en el caso de la caseína  $\beta$ , que puede llegar a constituir hasta un 50% de la caseína total, existe un alelo nulo (Ramuno *et al.*, 2000), pero su baja frecuencia nos inclina a pensar que no es el responsable del efecto en discusión. Sin embargo, podría esperarse que el polimorfismo ya descrito de la caseína  $\kappa$  (Yahyaoui *et al.* 2001), o algún otro posible aún no



descrito, podría tener un efecto importante sobre el contenido de caseína total, como ocurre en el ganado vacuno.

Respecto al contenido en caseína  $\alpha_{s2}$ , los resultados obtenidos son novedosos, ya que no hemos encontrado referencias de otros trabajos en los que se haya analizado esta variable. Se observa un patrón de relaciones entre genotipos parecido al de la caseína  $\alpha_{s1}$ , si bien las únicas diferencias significativas son las existentes entre el genotipo BB y el resto. Esto podría ser la consecuencia de ligamiento entre el locus CSN1S1 y el locus CSN1S2 (Grosclaude *et al.* 1987).

Por último, vemos que el recuento de células somáticas sigue el mismo orden relativo que el resto de las variables estudiadas y es significativamente superior en los genotipos BB. Esto ya se observó en trabajos preliminares de Agüera y col. (2001) y Agüera y col. (2004). La baja correlación entre cantidad de proteína en leche (superior en dichos genotipos) y el recuento celular somático observados por Zen y Escobar (1996) en varias razas caprinas podría ser una de las causas de esta asociación, si bien parece difícil que este factor explique unas diferencias tan elevadas.

En cuanto a los resultados relativos a los posibles efectos de los genotipos del locus CSN1S1 sobre la forma de las curvas de evolución de las variables estudiadas a lo largo de la lactación (análisis longitudinal), parece influir en la evolución del contenido de proteína, caseína, caseína  $\alpha_{s2}$  y recuento de células somáticas, como lo manifiestan las significaciones de los términos de intersección y de los coeficientes de regresión aleatorios de primer y segundo grado de las ecuaciones correspondientes (Tabla 1).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agüera M.P. y col. (2001). XXVI Jornadas Científicas y V Internacionales de la SEOC. Sevilla. Sept 2001. Libro de ponencias pp: 133-138
- Agüera M.P. y col. (2003 a). ITEA Vol. Extra nº 24. Tomo II, 477-479.
- Agüera M.P. *et al.* (2003 b). NIRS: Proceedings of the 11th International Conference. NIR Publications pp: 601-604.
- Agüera P. y col. (2003 c). II Jornadas Ibéricas de Razas Autóctonas y sus Productos Tradicionales: Ganadería Ecológica. Sevilla, 19-20 Dic, 2.003 Resumen comunicación pp: 177-178
- Agüera P. *et al.* Bulletin of FIL-IDF. (En prensa).
- Amills, M. (1996). Tesis Doctoral. UAB.
- Angulo C. *et al.* (2002) 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Productions. Montpellier. France.
- Barbieri, M.F. *et al.* (1995). *Genet. Sel. Evol.* **27**: 437-450
- Grosclaude F. *et al.* (1987). *Genet. Sel. Evol.* **18**:399-412
- Grosclaude F. y Martin, P. (1997). Proceedings of the FIL-IDF Seminar pp: 241-253
- Martin P. *et al.* (1999). Proceedings of the IDF/Greek National Committee of IDF/CIRVAL. Crete, Greece. Brussels ID, pp: 45-58
- Manfredi E. (2003). Proceedings of the International Workshop on Major Genes and QTL in Sheep and Goat. Toulouse, France. 8-11 Dec. 2003. Communication nº 2-17
- Ramunno L. *et al.* (2000). Proceedings 7th International Conference on Goats, France, 15-21 May. Vol.1. pp. 725.
- Remeuf, F. (1993) *Lait*, **73**: 549-557
- Ricordeau G. *et al.* (2000). 7th Intern. Conference on Goats: 249-251. Tours (France)
- SAS (2001). SAS Institute INC., Cary, NC, USA.
- Yahyaoui M.H. *et al.* (2001). *Journal of Dairy Research*, **68**:209-216.
- Zen S.S. y Escobar, E.N. (1996). *Small Ruminant Research*, 19:169-175

## **POLIMORFISMO DEL EXON 10 DEL RECEPTOR DE LA PROLACTINA (PRLR) Y EFECTOS SOBRE CARACTERES DE SUPERVIVENCIA DE LECHONES EN UN CRUCE IBERICO X MEISHAN**

**Tomás A.<sup>1</sup>, Casellas J.<sup>1</sup>, Ramírez O.<sup>1</sup>, Muñoz G.<sup>2</sup>, Pérez-Enciso M.<sup>1,3</sup>, J.L. Noguera<sup>4</sup> y Sánchez A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra. <sup>2</sup> Departamento de Genética y Mejora Animal SGIT-INIA, Ctra. De la Coruña km.7, Madrid, 28040, Spain. <sup>3</sup> Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, C/ Lluís Companys 23, 08010, Barcelona. <sup>4</sup> Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, C/ Alcalde Rovira Roure 177, 25198, Lleida.

### **INTRODUCCION**

La prolactina (PRL) es la hormona hipofisaria responsable de la activación de la síntesis de los componentes principales de la leche (proteínas lactogénicas, lactosa y lípidos) durante la gestación. En humano, bajos niveles de prolactina sérica durante las semanas 31,5-37 de gestación se hallan asociados al síndrome de estrés respiratorio neonatal (Parker *et al.* 1989). El mecanismo de acción de la PRL está mediado por la unión a su receptor (PRLR). En el cerdo, el gen *PRLR* se encuentra en el cromosoma 16 (Vincent *et al.*, 1997). Se ha descrito un polimorfismo en el exón 10 del gen *PRLR* que se ha asociado a un mayor número de lechones nacidos (Vincent *et al.*, 1998). Además de su efecto sobre el tamaño de camada, se han descrito otros efectos de esta mutación sobre el número de tetinas (Putnová *et al.*, 2002; van Rens y van der Lende, 2002), la edad a la pubertad y la tasa de ovulación (van Rens *et al.*, 2003); sin embargo, aun no se ha estudiado el efecto de *PRLR* sobre la viabilidad de los lechones en el momento del nacimiento.

En un trabajo anterior desarrollado por nuestro grupo se identificaron 3 polimorfismos situados en el exón 10 del gen *PRLR* (Tomás *et al.*, 2003). El objetivo del presente trabajo es el análisis de todos los polimorfismos del exón 10 del gen *PRLR* y el estudio de sus efectos sobre caracteres de supervivencia de los lechones en un cruce F<sub>2</sub> Ibérico x Meishan.

### **MATERIAL Y METODOS**

#### **Material animal y registros fenotípicos**

Los animales utilizados provienen de un cruce experimental F<sub>2</sub> entre 3 machos Ibéricos de la estirpe Guadyerbas (CIA Dehesón del Encinar, Oropesa, Toledo) y 18 hembras de la raza hiperprolífica Meishan (Domaine du Magneraud, INRA, Francia), los cuales produjeron 116 reproductores F<sub>1</sub>, y éstos a 389 reproductoras F<sub>2</sub> (Nova Genètica, Solsona, Lleida). En el momento del nacimiento, se registraron las siguientes medidas fenotípicas en los lechones F<sub>2</sub>: temperatura rectal al nacimiento (TR-0) y una hora después (TR-1), frecuencia cardíaca (FC-0, FC-1) y saturación de oxígeno (SO-0, SO-1), peso al nacimiento (PN), el intervalo nacimiento - llegada a las ubres (TU) y el intervalo nacimiento - primera toma de leche (TM) (Casellas *et al.*, 2004).

#### **Polimorfismos del exón 10 del gen PRLR**

Se ha secuenciado el exón 10 del gen *PRLR* en los 21 individuos parentales siguiendo el protocolo descrito por Tomás *et al.* (2003). El alineamiento de dichas secuencias ha permitido la identificación de 2 nuevos polimorfismos que se encuentran segregando en los individuos de la población. Se ha diseñado un protocolo basado en la técnica *primer extension analysis* para el genotipado conjunto de los 3 polimorfismos (SNP1, SNP2 y SNP3) descritos por Tomás *et al.* (2003), del polimorfismo descrito por Vincent *et al.* (1998) (SNP6), y dos nuevos polimorfismos caracterizados en el presente trabajo (SNP4 y SNP5).

#### **Análisis estadístico**

Para la realización del estudio de asociación se empleó el modelo estadístico descrito por Casellas *et al.* (2004) añadiendo, en el caso de los SNPs, dos covariadas para estimar el efecto aditivo (con valores -1, 0 y 1 para los genotipos 11, 12 y 22, respectivamente) y de dominancia (con valores 0, 1 y 0 para los genotipos 11, 12 y 22, respectivamente). En el caso de los haplotipos, se utilizó el

mismo modelo añadiendo una covariada para cada haplotipo, la cual toma valores de 0, 1 ó 2 en función del número de copias de cada haplotipo que tiene el individuo.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Caracterización del polimorfismo del exón 10 del gen *PRLR* porcino

Se ha secuenciado completamente la región codificante del exón 10 del gen *PRLR* en los individuos de la generación parental. Tras alinear las secuencias obtenidas se han detectado 2 nuevos polimorfismos no conservativos, en las posiciones 1.283 (C/A) y 1.600 (G/A), considerando como primera posición la de inicio de traducción. Los cambios aminoacídicos producidos por ambas mutaciones fueron Ala/Asp<sub>428</sub> y Gly/Ser<sub>534</sub>, respectivamente. El exón 10 del gen *PRLR* codifica íntegramente el dominio intracelular del receptor. Tras la activación del receptor por la unión de la PRL, se desencadena la activación en cascada de una serie de mediadores intracelulares asociados al receptor (proteínas STAT y JAKS-quinasas). Por tanto, mutaciones en este dominio podrían afectar a la funcionalidad de la proteína.

El análisis conjunto de los 6 polimorfismos en el cruzamiento experimental Ibérico x Meishan ha permitido la detección de 5 haplotipos distintos (Tabla 1). Los haplotipos A y B se han identificado exclusivamente en los 3 machos Ibéricos; mientras que los haplotipos C, D y E sólo están presentes en las hembras Meishan.

**Tabla 1.** Haplotipos detectados en el exón 10 del gen *PRLR* porcino

HAPLOTIPO		SNP1	SNP4	SNP3	SNP2	SNP5	SNP6
		1217 <sup>a</sup> / 406 <sup>b</sup>	1283 / 428	1439 / 480	1528 / 510	1600 / 534	1789 / 597
A	nt	T	A	A	A	G	G
	aa	Leu	Asp	Lys	Met	Gly	Gly
B	nt	T	A	A	A	G	A
	aa	Leu	Asp	Lys	Met	Gly	Ser
C	nt	C	A	G	T	G	G
	aa	Pro	Asp	Arg	Leu	Gly	Gly
D	nt	C	C	G	T	G	G
	aa	Pro	Ala	Arg	Leu	Gly	Gly
E	nt	C	C	G	A	A	A
	aa	Pro	Ala	Arg	Met	Ser	Ser

<sup>a</sup> posición de la mutación nucleotídica; <sup>b</sup> posición de la mutación aminoacídica

### Efectos del polimorfismo del gen *PRLR* sobre caracteres de supervivencia

Hemos detectado efectos significativos del gen *PRLR* sobre la frecuencia cardíaca en el momento del nacimiento, sobre la temperatura rectal y la saturación de oxígeno al cabo de una hora de nacer y sobre los intervalos nacimiento – llegada a las ubres y nacimiento primera toma de leche (Tabla 2). Tres de las mutaciones (SNP1, SNP3 y SNP4) afectan la FC-0, siendo los alelos de origen Meishan los favorables para el carácter en los tres casos. Sin embargo, este efecto no lo hemos detectado en el análisis considerando los haplotipos (Tabla 3). Lo mismo ocurre con el efecto sobre SO-1, donde el alelo A del SNP2 está asociado a una mayor saturación de oxígeno; sin embargo, ningún haplotipo parece tener efecto sobre dicho carácter. Por el contrario, el alelo A del SNP5 influye positivamente sobre el carácter TR-1. La variante A de esta mutación únicamente aparece en el haplotipo E, haplotipo en el que hemos detectado una asociación sugestiva con TR-1. Hecho que refuerza la asociación detectada e indica que el efecto sobre TR-1 se debe casi exclusivamente a la variante que presenta el individuo en la posición del SNP5. Finalmente, hemos detectado asociaciones significativas del SNP4 sobre TU y TM debidas, principalmente, a fenómenos de dominancia.

La principal causa de muerte de los lechones durante el parto es la asfisia producida como consecuencia de una rotura prematura del cordón umbilical. La asfisia neonatal retrasa el tiempo de llegada a las ubres y, por tanto, la primera ingesta de calostro indispensable para el mantenimiento de la homeotermia durante las primeras horas de vida (Herpin *et al.*, 1996). El estudio de genes relacionados con la viabilidad de los lechones resulta de gran interés dado el elevado coste económico que supone una alta tasa de mortalidad neonatal.

**Tabla 2.** Número de registros (n) y estimaciones del efecto aditivo (A) y de dominancia (D) para los seis SNP bialélicos analizados.

	SNP1			SNP2			SNP3		
	n	A	D	n	A	D	n	A	D
TR-0 (°C)	280	0,03	0,07	280	-0,05	0,06	280	-0,03	0,07
TR-1 (°C)	264	-0,05	0,25	264	-0,05	0,08	264	0,05	0,25
FC-0 (ppm)	253	-8,70*	-0,72	253	6,75	4,97	253	8,70*	-0,72
FC-1 (ppm)	238	-3,27	0,49	238	0,27	8,88	238	3,27	0,49
SO-0 (%)	236	-3,93	-3,18	236	1,77	-2,61	236	3,93	-3,18
SO-1 (%)	232	0,65	0,43	232	-1,42*	1,40†	232	-0,65	0,43
TU (min)	274	-2,85	-1,69	274	3,14	0,28	274	2,85	-1,69
TM (min)	277	-1,28	-4,66	277	2,64	-0,09	277	1,28	-4,66
PN (g)	282	-10,17	43,82	282	21,53	-15,96	282	10,17	43,82

	SNP4			SNP5			SNP6		
	n	A	D	N	A	D	n	A	D
TR-0 (°C)	280	-0,12	0,14	284	-0,10	0,01	279	-0,07	0,14
TR-1 (°C)	264	-0,02	0,17	268	0,47*	0,02	263	0,10	0,14
FC-0 (ppm)	253	12,69*	-3,18	257	11,03	-0,04	252	-5,53	6,55
FC-1 (ppm)	238	9,65	-3,45	241	4,34	0,12	236	-5,96	4,93
SO-0 (%)	236	1,13	0,20	239	0,91	0,02	234	-0,35	-3,46
SO-1 (%)	232	-0,42	-0,38	236	1,64	0,83	231	0,77	-0,28
TU (min)	274	5,91*	-9,20**	277	-0,15	0,07	272	-0,27	-1,29
TM (min)	277	7,30†	-9,90*	280	-6,07	4,33	275	-1,41	2,48
PN (g)	282	-36,93	35,58	286	-7,07	-2,01	281	8,57	-1,95

† =  $P < 0,1$ ; \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; Las estimas sin superíndice no alcanzan la significación estadística ( $P > 0,1$ )

**Tabla 3.** Número de registros (n) y efecto genético aditivo ( $\pm$  ES) de los diferentes haplotipos para los caracteres analizados (el haplotipo C se ha fijado a 0).

	n	Haplotipo A	Haplotipo B	Haplotipo D	Haplotipo E
TR-0 (°C)	279	0,09 $\pm$ 0,10	-0,03 $\pm$ 0,09	-0,07 $\pm$ 0,12	-0,06 $\pm$ 0,15
TR-1 (°C)	264	0,11 $\pm$ 0,20	-0,08 $\pm$ 0,18	-0,14 $\pm$ 0,23	0,53† $\pm$ 0,28
FC-0 (ppm)	253	3,19 $\pm$ 9,52	-5,71 $\pm$ 7,87	6,50 $\pm$ 10,14	14,64 $\pm$ 12,07
FC-1 (ppm)	239	11,42 $\pm$ 8,42	3,33 $\pm$ 7,89	15,41 $\pm$ 10,03	15,97 $\pm$ 12,15
SO-0 (%)	236	1,16 $\pm$ 2,28	-0,93 $\pm$ 2,28	1,09 $\pm$ 2,89	1,29 $\pm$ 3,44
SO-1 (%)	233	1,74 $\pm$ 1,03	0,50 $\pm$ 0,97	-0,22 $\pm$ 1,24	2,34 $\pm$ 1,50
TB (min)	272	-4,96 $\pm$ 3,84	-0,11 $\pm$ 3,56	0,90 $\pm$ 4,56	-3,73 $\pm$ 5,54
TM (min)	275	-0,39 $\pm$ 5,04	5,84 $\pm$ 4,66	11,24† $\pm$ 5,99	-5,27 $\pm$ 7,15
PN (g)	281	-73,96 $\pm$ 31,14	-19,09 $\pm$ 29,38	-63,70† $\pm$ 37,17	-77,22† $\pm$ 45,33

† =  $P < 0,1$

### AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por MCYT (AGL2000-1229-C03). Los autores les agradecen a Jean Pierre Bidanel (INRA) y a J.C. Caritez (INRA) y M. Arqué (IRTA) por su inestimable colaboración. Al personal de *Nova Genética* por su excelente cooperación en el desarrollo del protocolo experimental, en particular a Paco Márquez y Eva Ramells. Los autores agradecen especialmente las contribuciones del INRA (Francia) y del CIA *El Dehesón del Encinar* (Toledo) por proporcionar las cerdas puras Meishan y los verracos Guadyervas, respectivamente.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Casellas *et al.* 2004. *J Anim Sci*, 82: 1919-1924.
- Herpin *et al.*, 1996. *J. Anim. Sci*, 74: 2067-75.
- Parker *et al.* 1989. *Am J Obstet Gynecol.* 161(3):795-802.
- Putnová *et al.* 2002. *Journal of Animal Breeding Genetics* 119: 57-63.
- Tomás *et al.* 2003. X Jornadas sobre Produccion Animal, ITEA, Zaragoza, 2003.
- Van Rens BTTM. y van der Lende T. 2002. *Theriogenology* 57: 883-893.
- Van Rens *et al.* 2003. *Theriogenology* 59: 915-926.
- Vincent *et al.* 1997. *Mammalian Genome* 8: 793-4.
- Vincent *et al.* 1998. *Proc. 6<sup>th</sup> World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod* 27: 15-18.

## SIMILITUD GENÉTICA EN GRUPOS DE AVESTRUCE EN LA AMAZONÍA BRASILEÑA

M. R. Costa<sup>1</sup>; J. R. F. Marques<sup>2</sup>; S. F. Ferreira<sup>3</sup>; J.M. León<sup>4</sup> y J.V. Delgado<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ingeniero agrónomo, M.Sc. en Genética (mariahrosah@hotmail.com) Embrapa Amazonia Oriental-Cx.P.48- CEP 66.095-100-Belém-PA- Brasil.

<sup>2</sup> Zootecnista., Dr. en Genética,(marques@cpatu.embrapa.br) Embrapa Amazonia Oriental – Cx. P. 48 - CEP 66.095 -100 – Belém – PA Brasil.

<sup>3</sup> Becario UFPA/Embrapa Amazonia Oriental.

<sup>4</sup> Departamento de Genética. Universidad de Córdoba. España.

### INTRODUCCIÓN

La cría de avestruces o estrutiocultura presenta un gran desarrollo en Brasil y, en la región amazónica, el número criadores se ha incrementado bastante en los últimos años, lo que lleva a deducir que, en poco tiempo, esta actividad adquirirá un papel importante en el ámbito de la producción animal. Se están llevando a cabo diferentes investigaciones sobre el comportamiento y el manejo de estos animales en algunos criaderos de la región que, en poco tiempo, aprotarán conclusiones de interés para la cría de estas aves en la Amazonía brasileña.

En el área de la biología molecular no existen informaciones en la Amazonía brasileña, hasta el momento, sobre ningún estudio con esta especie. Sin embargo, en la región Sudeste del Brasil, algunos autores han desarrollado análisis de PCR para sexaje (Bello y Sánchez, 1999; Malagó Jr. *et al.*, 2002;) y en otros países, hay informaciones sobre estudios con marcadores microsátélites en la detección de polimorfismos en esta especie (Kumari & Kemp, 1998).

El avestruz (*Struthio camelus*) pertenece al grupo de las rátidas, o sea, es un ave corredora, originaria del sur de África. Presenta un temperamento dócil y gran rusticidad (Negrini, 2002; Taguchi, 2002; Nithack, 2001).

Puede ser clasificada en subespecies, como son la *S. camelus camelus*, *australis*, *siriacus* y *domesticus*. En Brasil se encontra en mayor número la raza Black Neck o African Black -Cuello Negro- (Kiss, 2002; Nithack, 2001).

La importancia de la cría del avestruz radica en los productos y subproductos que ofrece, siendo la carne apreciada, además de por su sabor, por poseer todos los requisitos de un alimento saludable: bajísimos niveles de colesterol, poca grasa, elevados niveles de proteína y elevado tenor de hierro, etc. (Taguchi, 2002).

El presente trabajo tiene como objetivo efectuar un análisis preliminar de algunos grupos genéticos criados en la Amazonía brasileña, evaluándose el grado de similitud, como herramienta para el desarrollo de acciones de mejoramiento genético, utilizándose más racionalmente la variabilidad existente, para conseguir una mayor productividad animal.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El material animal de investigación estaba compuesto por 23 individuos, provenientes de las granjas MARAVEST (12), localizada en Imperatriz-MA y PERI-CIGANO (11), en Tracuateua-PA, en la Amazonía brasileña. Los animales, en ambas propiedades, pertenecen a la raza Black Neck o African Black, siendo identificados a través de los números de recogida y marcado, así como por el origen de los animales.

La sangre obtenida de los animales fue procesada en el Laboratorio de Genética

y Biología Molecular - LABGEN perteneciente a la Embrapa Amazonía Oriental. El DNA genómico fue extraído a partir de 150 µl de sangre total. De entre los primers polimórficos fueron seleccionados aquellos que poseían por lo menos tres bandas. Los primers utilizados en el análisis RAPD fueron: OPB03, OPB09, OPQ04, OPQ05, OPQ06, OPQ07, OPQ09, OPQ20, OPF09, OPF10, OPAW08, OPO08, OP015 y OPO19. Las reacciones RAPD fueron desarrolladas, de acuerdo con el protocolo de Williams *et al.* (1990), modificado. Las amplificaciones fueron realizadas en termociclador de DNA Thermolyne Amplitron II, modelo DB.80225, siendo realizados 40 ciclos de 1' a 94 °C, 1' a 37 °C y 2' a 72 °C, seguidos de 7' a 72 °C, para la completa extensión de los productos amplificados. El método utilizado para la separación de los productos amplificados fue la electroforesis horizontal, en gel de agarosa al 1,5%, con bromuro de etidio (1mg/ml). Para el análisis de los datos, se utilizó el NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), versión 2.02. Las similitud entre las muestras fue estimada por el coeficiente de Jaccard. A partir de la matriz, fue generado el cluster, por el método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average), que finalmente se expresó en forma de dendrograma.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aplicaron un total de 76 marcadores RAPD, con tamaños que oscilaron entre los 300pb y los 2200 pb, mediante los 14 *primers* utilizados, donde todos fueron polimórficos. El número de fragmentos polimórficos por *primer* varió de 11 (OPQ-06) a 1 (OPQ-04, OPB-03 y OPB-09). Se observó de entre los fragmentos amplificados, la existencia de bandas específicas a los individuos. Fueron estimados los índices de similitud para todos los individuos analizados. La mayor disimilitud fue obtenida, comparándose el individuo Av23 con el Av18 (7 %) de Tracuateua-PA. Ello indica que estos individuos son candidatos potenciales, como fuente de variabilidad, para el mejoramiento genético, pues se trata de genotipos con característica génicas diversas. Por otro lado, la mayor similitud genética tuvo lugar entre el Av7 y el Av4 (83 %) de Imperatriz-MA, indicando que, para la realización de cruzamientos, los machos escogidos como reproductores deben ser de diferentes orígenes, para aumentar la variabilidad de los descendientes.

En la figura 1, se muestra el dendrograma, generado por el método UPGMA, mediante el programa NTSYS-pc, 2.02. Este análisis de distancia genética generó el cluster, que muestra la separación de los individuos, en dos grupos principales. En el primer grupo se encuentra aislado el individuo AV9, indicando que, potencialmente, se trata de un individuo con una dotación génica diferenciada. En el segundo grupo, que se subdivide en dos subgrupos, con un coeficiente de similitud, que varía del 7% al 83%, se incluyen 22 individuos, originarios de las dos localidades de origen, demostrando que en un trabajo de mejoramiento genético se pueden ordenar los cruzamientos de los individuos más disimilares, es decir, cuanto menor sea la similitud de los individuos mayor será la respuesta fenotípica, en lo que se refiere a la producción de carne, la fertilidad y cantidad de sus huevos, así como una apariencia general más homogénea de los animales. Se observó gran divergencia entre algunos animales, procedentes de la misma localidad, indicando, tal vez, que hubo adquisición de animales de orígenes diversos, lo que puede ser importante para imprimir mayor variabilidad al grupo, siendo fundamental para el establecimiento de líneas de mejoramiento genético más eficaces. Los marcadores RAPD se mostraron eficientes

para detectar polimorfismos en esta especie y pueden ser utilizados como una poderosa herramienta en la obtención de informaciones útiles para el manejo y el direccionamiento de programas de mejoramiento genético. Este estudio de diversidad genética permitió la obtención de informaciones útiles, aun así, pensamos que, incluyéndose otras poblaciones y otras técnicas moleculares, puede obtenerse un cuadro general de diversidad para esta especie en la región.

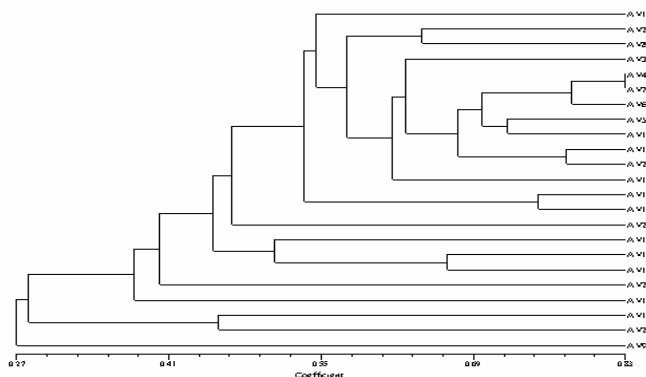


Figura 1. Dendrograma generado por el método de análisis cluster UPGMA para el coeficiente de Jaccard, para las 76 bandas generadas por el RAPD.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELLO N, SÁNCHEZ A: The identification of a Sex-specific DNA marker in the ostrich using a random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay. *Molecular Ecology*, 1999, 8(4):667-669.
- KISS, J. Avestruz. Hora da decolagem. *Globo Rural*, São Paulo, Ano 17, n. 17, p. 32-38, março. 2002.
- KUMARI P, KEMP S.J: Polymorphic microsatellite markers in the ostrich (*Struthio camelus*). *Molecular Ecology*, 1998, 7:133-140.
- MALAGÓ JR, W.; FRANCO, H. M.; MATHEUCCI JR, E.; MEDAGLIA, A.; HENRIQUE-SILVA, F. Large scale sex typing of ostriches using DNA extracted from feathers. *BMC Biotechnology*, 2002, 2:19.
- NEGRINI, M. A Invasão do Avestruz. *Escala Rural*, São Paulo, Ano III, n. 19, p. 12-17. 2002.
- NITHACK, A. L. Estruticultura. Uma opção de criação. *Ver. Bras. de Agrop.* São Paulo, Ano II, n. 16, p 6-19. 2001.
- TAGUCHI, V. Estruticultura. Organizando o Mercado. *Escala Rural*, São Paulo, Ano III, n. 22, p. 42-45. 2002.
- WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, v.18, p.6531-6535, 1990.

## EFFECTOS DEL GEN PrP SOBRE CARACTERES PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS EN LA RAZA OVINA RIPOLLESA<sup>1</sup>

J. Casellas<sup>1</sup>, Piedrafita J.<sup>1</sup>, Caja G.<sup>1</sup>, Bach R.<sup>3</sup> y Francino O.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants, <sup>2</sup>Servei de Genètica Veterinària,

<sup>1,2</sup>Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

<sup>3</sup>Associació Nacional de Criadors d'Ovins de Raça Ripollesa, Monells, Girona.

### INTRODUCCIÓN

El *locus* PrP ha merecido especial atención en ovino durante los últimos años dada su implicación en el control de la susceptibilidad al scrapie (Bossers et al., 1996). Este gen se localiza en el cromosoma 13 de los ovinos y hasta el momento se han descrito 5 alelos (ARR, ARQ, ARH, AHQ y VRQ), según el polimorfismo de los aminoácidos que se sitúan en los codones 136, 154 y 174 (A, Alanina; R, Arginina; H, histidina; V, Valina; Q, Glutámico), y entre los que ARR y VRQ son los alelos de mayor y menor resistencia al scrapie, respectivamente (Belt et al., 1995; Jeffrey et al., 2001). La actual legislación europea (Decisión de la Comisión, 2003/100/CE) establece que se debe realizar una selección favorable al alelo ARR a fin de reducir la susceptibilidad al scrapie en las razas ovinas europeas, aunque se conocen muy escasamente los efectos correlacionados que puedan producirse sobre otros caracteres de interés productivo. Algunos resultados sugieren que los efectos son específicos de cada raza, si bien la información disponible sobre las asociaciones con caracteres productivos en razas ovinas españolas es muy limitada (Parada et al., 2003; Ponz et al., 2004).

Este trabajo pretende explorar las asociaciones existentes entre los alelos del gen PrP y algunos caracteres productivos y reproductivos en ovinos de raza Ripollesa, raza autóctona catalana que se encuentra sometida a un programa de control de producciones y mejora genética (Guillaument y Caja, 2001).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 7 moruecos, 114 ovejas y 68 corderos de raza Ripollesa del rebaño experimental del S1GCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB en Bellaterra, que se genotiparon respecto al gen PrP en el Servei de Genètica Veterinària de la UAB, mediante *primer extension analysis* en formato *multiplex* (SNaPshot Multiplex, Applied Biosystems) descrito por Alvarez et al. (2003). Además, se reconstruyó el genotipo de 24 animales a partir de datos genealógicos dado que sus padres eran homocigotos para el *locus* PrP. A partir del control de producciones se dispuso de los datos de peso al nacimiento (**PN**, n = 211) y peso a los 90 d de edad (**P90**, n = 164) de corderos, y de la fertilidad (**FE**, n = 408; 0 = oveja no parida y 1 = oveja parida) y prolificidad (**PR**, n = 364; 1 = parto simple y 2 = parto múltiple) de 88 ovejas. El modelo asumido para los caracteres reproductivos incluyó el efecto genético aditivo del animal, el efecto ambiental permanente caracterizado por la oveja, y como efectos sistemáticos, la edad de la oveja (<3, 3, 4, 5 y >5 años) y el año de parto (<2000, 2000, 2001, 2002, 2003 y 2004). El efecto de cada alelo PrP fue modelado como una covariable que tomaba como valor el número de copias

---

<sup>1</sup> Trabajo incluido en el convenio DARP-ANCRI-UAB.



del alelo que incluía el genotipo del animal. Por otro lado, los modelos del PN y P90 incluyeron también el sexo del cordero y el tipo de parto (simple o doble). Todos los caracteres fueron analizados con metodología bayesiana bajo un modelo animal univariante, lineal para PN y P90 y de umbral para FE y PR. Se asumió que PN y P90, así como la predisposición correspondiente a FE y PR (Sorensen et al., 1995), seguían una distribución  $NMV(\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}, \mathbf{I}\sigma_e^2)$ , donde  $\mathbf{W}$  era la matriz de incidencia de efectos sistemáticos ( $\mathbf{b}$ ), permanentes ( $\mathbf{p}$ ) y genéticos aditivos ( $\mathbf{a}$ ), representados por el vector  $\boldsymbol{\theta}$ ,  $\mathbf{I}$  era una matriz de identidad y  $\sigma_e^2$  la varianza residual. Las distribuciones *a priori* para  $\mathbf{a}$  y  $\mathbf{p}$  fueron  $\mathbf{a} \sim NMV(\mathbf{0}, \mathbf{A}\sigma_a^2)$  y  $\mathbf{p} \sim NMV(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_p^2)$ , siendo  $\mathbf{A}$ , la matriz de parentescos aditivos, y  $\sigma_p^2$  y  $\sigma_a^2$  las varianzas ambiental permanente y genética respectivamente. Se asumieron *a priori* planos para los restantes parámetros de los modelos (efectos sistemáticos, permanentes y componentes de varianza). Para cada carácter se lanzó una única cadena de 100.000 iteraciones, descartando las 10.000 primeras (Raftery y Lewis, 1992).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de los datos fenotípicos fueron: FE = 89%, PR = 1.55 corderos/parto, PN = 3.24 kg y P90 = 19.89 kg. Sólo se observaron tres alelos PrP en los animales genotipados, siendo su frecuencia: ARR (0.39), ARQ (0.46) y ARH (0.14), tal como se resume en la **Tabla 1**. Aunque en el rebaño del S1GCE no se detectaron animales portadores de los alelos AHQ y VRQ, ambos han sido encontrados en otros rebaños de la raza Ripollesa en los que, según los datos disponibles actualmente, se presentan con unas frecuencias totales de 0.02 y 0.03, respectivamente (Programa Aries, MAPA, Madrid).

**Tabla 1.** Frecuencia de alelos PrP en la muestra de ovinos de raza Ripollesa.

	n	Frecuencias alélicas		
		ARR	ARQ	ARH
Moruecos y ovejas	121	0.34	0.53	0.13
Corderos	68	0.34	0.36	0.23
Animales con genotipo reconstruido	24	0.61	0.39	0.00
Total	213	0.39	0.46	0.14

Las distribuciones marginales posteriores para las diferencias entre los efectos de cada alelo incluyeron el valor cero dentro del intervalo de máxima probabilidad posterior al 95% (**IMPP95**) para todos los caracteres analizados con excepción de la PR (**Tabla 2**). Para este carácter, se observó que el alelo ARH era claramente favorable en relación con el ARQ, siendo la moda de ARH-ARQ igual a 0.51 unidades de varianza residual (IMPP95 = 0.08 a 0.97; Tabla 2). La diferencia entre ARH y ARR también sugirió una ventaja para el primero, aunque los umbrales del IMPP95 fueron -0.05 y 0.87, incluyendo la diferencia nula. Finalmente, la diferencia entre ARR y ARQ fue muy próxima a cero (Tabla 2). La PR predicha para la población considerada, asumiendo que todos los animales fuesen ARR/ARR, ARQ/ARQ o ARH/ARQ fue 1.59, 1.53 y 1.66 respectivamente (no se consideró la combinación ARH/ARH dado que no existía ningún animal en el rebaño con este genotipo).

La ventaja del alelo ARH también ha sido también sugerida en la raza Rasa Aragonesa (Ponz et al., 2004), geográficamente próxima a la Ripollesa, mientras que en las razas Texel y Suffolk se han descrito resultados opuestos (Alexander et al., 2003; Brandsma et al., 2004), no observándose asociaciones significativas entre el *locus* PrP y la prolificidad en las razas norteamericanas Columbia, Rambouillet y Hampshire (Alexander et al., 2003).

**Tabla 2.** Moda y umbrales del intervalo de máxima probabilidad posterior al 95 % (IMPP95) para las diferencias entre los efectos aditivos de cada combinación de alelos PrP.

Carácter productivo	ARR – ARQ		ARR – ARH		ARQ – ARH	
	Moda	IMPP95	Moda	IMPP95	Moda	IMPP95
Peso al nacimiento	0.03	-0.14 a 0.19	0.01	-0.20 a 0.22	-0.02	-0.23 a 0.19
Peso a 90 días	0.33	-0.60 a 1.26	-0.51	-1.66 a 0.81	-0.84	-2.03 a 0.53
Fertilidad	-0.14	-0.51 a 0.06	0.01	-0.41 a 0.44	0.15	-0.24 a 0.57
Prolificidad	0.10	-0.15 a 0.37	-0.41	-0.87 a 0.05	-0.51	-0.97 a -0.08

Considerando la variabilidad de los resultados publicados, parece razonable pensar que las influencias sobre la prolificidad ovina no se deben a efectos pleiotrópicos del gen PrP, sino a la influencia de algún otro *locus* ligado a éste.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la selección a favor de ARR y en contra de ARH debería disminuir la prolificidad de los rebaños de raza Ripollesa, lo que representa un inconveniente que deberá ser compensado al aplicar los planes de selección en contra la susceptibilidad al scrapie, de acuerdo con las directrices establecidas por la Unión Europea.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander B.M., Stobart R.H., Russell W.C., O'Rourke K.I., Lewis G.S., Logan J.R., Duncan J.V. & Moss G.E. J. Dairy Sci. 83: 455-459.
- Alvarez L., Arranz J.J. & San Primitivo F. 2003. ITEA Prod. Anim. 24 (vol. extra): 480-482.
- Belt P.B., Muileman I.H., Schreuder B.E., Bos-de Ruijter J., Gielkens A.L. & Smits M.A. 1995. J. Gen. Virol. 76: 509-517.
- Bossers A., Schreuder B.E.C., Muileman I.H., Belt P.B. & Smits M.A. 1996. J. Gen. Virol. 77: 2669-2673.
- Brandsma J.H., Janss L.L.G. & Visscher A.V. 2004. Livest. Prod. Sci. 85: 59-64.
- Guillaumet J. & Caja G. 2001. Ganadería 7: 23-32.
- Jeffrey M., Ryder S., Martin S., Hawkins S.A., Terry L., Berthelin-Baker C. & Bellworthy S.J. 2001. J. Comp. Pathol. 124: 280-289.
- Parada A., Marcotegui N., Arana A. & Alfonso L. 2003. ITEA Prod. Anim., 24 (vol. extra):438-440.
- Ponz R., Tejedor T., Laviña A. & Arruga M.V. 2004. Estudio de la asociación de los alelos del gen PrP con el carácter prolificidad en la raza Rasa Aragonesa. XXIX Jornadas Científicas SEOE, Lleida, pp. 368-370.
- Rafferty A.E. & Lewis S.M. 1996. Implementing MCMC. In: Gilks W.R., Richardson S. & Spiegelhalter D.J. Markov Chain Monte Carlo in practice. Chapman & Hall, Londres.
- Sorensen D.A., Andersen S., Gianola D. & Korsgaard I. 1995. Genet. Sel. Evol. 27: 229-249.

## GENERACIÓN DE UNA GENOTECA DE ADNc DE OVIDUCTO DE CONEJO Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE ESTs.

M. Merchán<sup>1</sup>, R. Peiró<sup>2</sup>, J.M. Folch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unitat de Genètica i Millora Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. 08193 Bellaterra. <sup>2</sup>Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012, 46071 Valencia.

### INTRODUCCIÓN

El oviducto de los mamíferos está sometido a cambios bioquímicos y fisiológicos inducidos por las hormonas durante el ciclo estral y durante la gestación temprana. Estos cambios aportan el microambiente necesario para la maduración de los gametos, la capacitación de los espermatozoides, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano. La secreción oviductal es un fluido bioquímicamente complejo y su principal componente son las proteínas. Una parte de éstas procede del exudado sérico, pero la otra parte es expresada y liberada por el propio epitelio oviductal (Killian, 2004).

A pesar del interés que presenta este órgano reproductivo, actualmente son relativamente pocos los estudios realizados sobre la caracterización de los genes expresados específicamente en oviducto tanto de conejo como de otras especies domésticas. Esta falta de conocimiento representa un obstáculo en el conocimiento de los mecanismos moleculares que controlan la fecundación y las primeras fases del desarrollo embrionario.

El análisis de ESTs (*Expressed Sequenced Tags*) es una estrategia ampliamente utilizada para la caracterización de la expresión génica. Los ESTs son secuencias cortas y parciales, normalmente de 100-500 pb, de clones de genotecas de ADNc (Graveley, 2001). Una genoteca de ADNc es una colección de moléculas de ADNc recombinantes (generadas por transcripción reversa del ARNm) que representa todos los genes expresados en una determinada célula o tejido en un momento fisiológico determinado (Ying, 2003). El análisis de ESTs es una buena aproximación para descubrir nuevos genes, para identificar las regiones fronterizas entre exones/intrones, y nuevas formas de procesamiento alternativo de genes ya conocidos (Yuan *et al.*, 2001). También permite la identificación de las secuencias de genes en especies en las que se desconocían mediante la identificación de similitud nucleotídica o aminoacídica usando el Basic Local Alignment Tool (BLAST). Además, los ESTs pueden ser utilizados para cartografiar en el genoma los genes a partir de los que derivan, permitiendo el desarrollo de mapas genéticos y citogenéticos, y mejorando el mapa comparativo entre especies. Además, son una fuente de genes candidatos para caracteres de interés productivo.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Recogida de muestras.* Para la construcción de la genoteca de ADNc se han utilizado muestras de oviducto de 3 conejos pertenecientes a una línea de la Universidad Politécnica de Valencia seleccionada para aumentar la capacidad uterina. Los animales fueron sacrificados a las 62 horas post-monta, verificando previamente, mediante laparoscopia, que hubiesen ovulado. Posteriormente, se les

extrajo el aparato reproductivo y se perfundió el oviducto con PBS. Los tejidos fueron inmediatamente congelados en nitrógeno líquido y conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

*Construcción de la genoteca de ADNc.* Se realizó la extracción del ARNm de un pool de los oviductos de los 3 animales mediante la utilización del kit *Fast Track® 2.0 mRNA Isolation Kit (Invitrogen)*. Una vez comprobada la integridad del ARNm se procedió a la construcción de la genoteca usando el kit *Creator® SMART™ cDNA Library Construction Kit (Clontech)*. El vector incluido en este kit (pDNR-LIB) permite la clonación direccional del ADNc mediante la incorporación de dianas asimétricas (A y B) para el enzima de restricción *Sfil* en los extremos 5' y 3' del ADNc, respectivamente. Una vez obtenidos, los plásmidos recombinantes fueron transformados mediante electroporación en células *ElectroMAX™ DH5α-E™ (Invitrogen)*. Posteriormente, se determinó el título de la genoteca mediante la siembra en placas de LB ágar que contenían cloranfenicol (30  $\mu\text{g/ml}$ ).

*Secuenciación de ADN y análisis de ESTs.* Se aislaron, sembraron y purificaron 215 clones, que finalmente fueron secuenciados en el secuenciador automático *ABI PRISM 3100 Avant (Applied Biosystems)* con el kit *Big Dye® Terminator v.3.1 Cycle Sequencing* y un primer *M13 Forward* situado en el extremo 5' de los insertos. Previa eliminación de las regiones correspondientes al vector y de los clones redundantes, se analizaron las secuencias de los insertos con el programa BLAST del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) para analizar su similitud nucleotídica con las secuencias depositadas en la base de datos del *GenBank*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

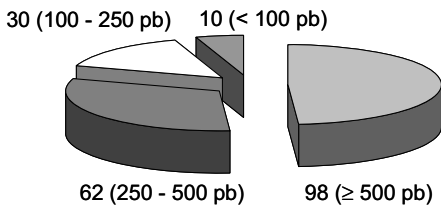
Se ha construido una genoteca de ADNc no normalizada y clonada direccionalmente a partir del ARNm de muestras de oviducto de 3 conejas sacrificadas a las 62 horas post-monta. En esta fase de la gestación, los embriones (principalmente mórulas) se encuentran todavía en el oviducto. El título de la genoteca es de  $6.8 \times 10^6$  y el porcentaje de clones recombinantes es del 96%.

Se han aislado y secuenciado un total de 215 clones utilizando el primer M13F localizado en el extremo 5' del inserto. De las 215 secuencias de los clones, 9 no contenían inserto y 6 eran de baja calidad. Los 200 clones restantes han sido clasificados en función del tamaño de los insertos (Figura 1). Para la caracterización de los ESTs se han analizado las secuencias que presentaban una longitud igual o superior a 150 pb y se han clasificado en función de la similitud nucleotídica que presentaban con la base de datos del *GenBank* al utilizar el BLASTN (Figura 2). Se han clasificado como *Genes conocidos* aquellas secuencias que eran homólogas a genes previamente depositados en *GenBank* (E-value  $< e^{-7}$ ), como *Similares a genes no anotados* a aquellas secuencias que presentaban similitud con secuencias no anotadas (clones de ADN o ADNc) y como *Genes desconocidos* las secuencias que no presentaban homología (no blast o E-value  $> e^{-7}$ ).

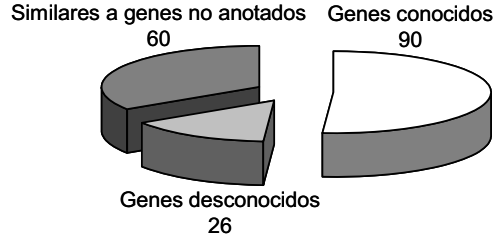
El kit utilizado está diseñado para obtener una genoteca enriquecida en moléculas de ADNc completas, sin embargo, los resultados obtenidos indican que gran parte de los insertos corresponden a ARNm incompletos en el extremo 5', aunque normalmente el extremo 3' está completo. No obstante, para caracterizar ESTs es suficiente con secuencias de 150-400 pb.

El resultado preliminar del análisis de los ESTs indica que hay un porcentaje elevado de ESTs homólogos a genes conocidos o similares a genes no anotados (Figura 2). Este resultado es esperable al tratarse de una genoteca no normalizada, en la que hay un número elevado de ARNm de genes relacionados con el

metabolismo celular que se expresan en un gran número de tejidos y que ya han sido previamente secuenciados e identificados en conejo u otras especies.



**Figura 1.** Clasificación de los clones en función del tamaño de sus insertos. No se han incluido los clones sin inserto ni aquellos que presentaban secuencias de mala calidad.



**Figura 2.** Clasificación de los clones en función de su similitud nucleotídica con la base de datos del *GenBank* al utilizar el BLASTN. Sólo se han considerado las secuencias  $\geq 150$  pb.

En el hombre y en el ratón se están caracterizando de forma sistemática millones de ESTs (6,052,636 y 4,329,768, respectivamente). En conejo, sin embargo, sólo se han depositado en *GenBank* las secuencias de 2,275 ESTs pero no proceden de estudios de caracterización de la expresión génica de tejidos reproductivos (dbEST NCBI, febrero 2005). La genoteca presentada en este trabajo permitirá la identificación de aquellos genes que se transcriben en el oviducto de conejas a las 62 horas de gestación. La caracterización de los ESTs de este tejido en este momento fisiológico podrá ser utilizada como una fuente de genes candidatos para caracteres importantes desde un punto de vista económico, como es la supervivencia embrionaria pre-implantacional, y también permitirá ayudar a comprender, desde un punto de vista molecular, algunos de los acontecimientos que se producen en el oviducto durante el desarrollo temprano de los embriones.

## AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado con el proyecto MCYT (AGL2001-3068-C03) y con una beca FPI a M.Merchán (MCYT) y a R. Peiró (OCYT).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Graveley, B.R. 2001. Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world. *TRENDS in Genetics*. 17 (2). 100-107.
- Killian, G.J. 2004. Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization and embryo development. *Animal Reproduction Science*. 82-83. 141-153.
- Ying, Shao-Yao. 2003. Generation of cDNA Libraries. *Methods and Protocols*. Vol. 221. Chapter 1: Complementary DNA Libraries. An overview. 1-12. Human Press. Totowa, New Jersey.
- Yuan, J., Liu, Y., Wang, Y., Xie, G., Blevins, R. 2001. Genome analysis with gene-indexing databases. *Pharmacology & Therapeutics*. 91. 115-132.

## **ANÁLISIS MITOCONDRIAL DE POBLACIONES CAPRINAS ESPAÑOLAS Y SUDAMERICANAS**

Marcel Amills<sup>1</sup>, Armand Sànchez<sup>1</sup>, Juan Capote<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193

<sup>2</sup> Unidad de Producción Animal, Pastos y Forrajes, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna, Santa Cruz de Tenerife

### **INTRODUCCIÓN**

El análisis filogenético de la región mitocondrial D-loop de más de 400 cabras de origen europeo, aficano y asiático ha evidenciado la existencia de un bajo nivel de estructura filogeográfica (Luikart et al. 2001). Asimismo, el análisis de la varianza molecular (AMOVA) de dichas secuencias ha permitido determinar que tan solo un 20% de la varianza molecular corresponde a diferencias entre razas o entre continentes, mientras que el restante 80% es atribuible a diferencias entre individuos (Luikart et al. 2001). Una posible explicación para este bajo nivel de diferenciación interracial estaría relacionada con el transporte de cabras, desde tiempos muy remotos, en viajes exploratorios y rutas comerciales, hecho que habría facilitado la mezcla de razas localizadas en regiones geográficas distantes (Luikart et al. 2001). El análisis filogenético de secuencias mitocondriales correspondientes a razas caprinas españolas ha demostrado también la existencia de una baja estructura filogeográfica en razas pensinsulares, mientras que en las razas canarias el grado de estructuración es superior (Amills et al. 2004). Actualmente, se han descrito 5 haplotipos mitocondriales caprinos: A (cosmopolita), B (India, Pakistán, Mongolia, Malasia), C (Eslovenia, Suiza, Mongolia, India Pakistán), D (India, Pakistán) y E (India) (Luikart et al. 2001, Sultana et al. 2003, Joshi et al. 2004).

El objetivo del presente trabajo ha consistido en extender el análisis filogenético de la región D-loop a poblaciones caprinas criollas procedentes del continente americano. Existen abundantes evidencias históricas que señalan el archipiélago canario como un punto de abastecimiento de los barcos procedentes de Europa que viajaban hacia América del Sur. Los resultados del presente trabajo, por tanto, permitirían determinar si las razas canarias han tenido algún tipo de influencia en la génesis de las actuales razas americanas

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El material animal correspondiente a razas europeas, africanas y asiáticas se halla descrito en Amills et al. (2004). En el presente trabajo se han realizado extracciones de DNA de pelo de cabras criollas argentinas (N = 8), peruanas (N = 3) y cubanas (N = 5). El protocolo utilizado para extraer DNA del folículo piloso ha sido previamente descrito por Pfeiffer et al. (2004).

El protocolo de amplificación y secuenciación parcial de la región mitocondrial D-loop caprina se halla descrito en Amills et al. (2004). El análisis filogenético de las secuencias mitocondriales caprinas se realizó mediante el programa MEGA v2.1 (Kumar et al. 2001). Se construyó un árbol Neighbor Joining mediante la utilización de la distancia de Kimura de dos parámetros y la realización de 1000 réplicas mediante bootstrapping

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El árbol filogenético demuestra la existencia de una baja estructura filogeográfica en las poblaciones analizadas. Los valores de bootstrap (bt) en general son muy bajos. Se observan agrupamientos entre secuencias correspondientes a poblaciones geográficamente muy distantes p.e. Murciana y Tindouf (Argelia) con bt = 59 y Cachemira (India) con Alpina y Saanen con bt = 69, mientras que muy frecuentemente individuos pertenecientes a una misma raza, país o continente no se agrupan juntos. Se observa un clúster con un valor altamente significativo (bt = 99) correspondiente a la raza Majorera. Asimismo, el árbol evidencia la existencia de otro clúster que agrupa a individuos de las razas Palmera, Tinerfeña, Majorera, Criolla argentina y Criolla cubana. El valor bt de este clúster es muy bajo (bt = 17), aunque en otro análisis realizado con un menor número de secuencias el valor bt fue notablemente mayor (bt = 54). Esta discrepancia posiblemente se deba a que este clúster está respaldado por un bajo número de posiciones informativas. Sin embargo, y a pesar de la baja significación estadística, este agrupamiento es muy consistente independientemente de la metodología de análisis utilizada. Desde una perspectiva histórica este agrupamiento resulta de gran interés, ya que existen numerosas evidencias que demuestran que las Islas Canarias fueron un punto de avituallamiento de los barcos europeos que hacían la ruta de Las Indias y en donde se estibaba todo tipo de ganado (ovejas, cabras y cerdos) y diversas mercancías (Capote et al. 2004). Nuestros resultados sugieren que las cabras canarias han participado en la formación de las razas Criollas cubana y argentina. No obstante, la amplia distribución de las secuencias de cabras criollas en el árbol filogenético sugiere la influencia adicional de otras poblaciones caprinas en la formación de estas razas p.e. en el caso de las cabras Criollas cubanas se observa que agrupan con las cabras Sahélienne de origen africano, indicando una posible influencia de las segundas sobre las primeras. Finalmente, cabe destacar que se ha observado un individuo de raza Malagueña (MAL C154) cuya secuencia mitocondrial diverge claramente del resto de secuencias. Ello se debe a que esta secuencia pertenece al haplotipo mitocondrial C, mientras que el resto de secuencias son de tipo A. Este resultado pone de manifiesto que la distribución geográfica del haplotipo C no es tan fragmentaria como pudiera parecer, aunque probablemente su frecuencia sea notablemente baja.

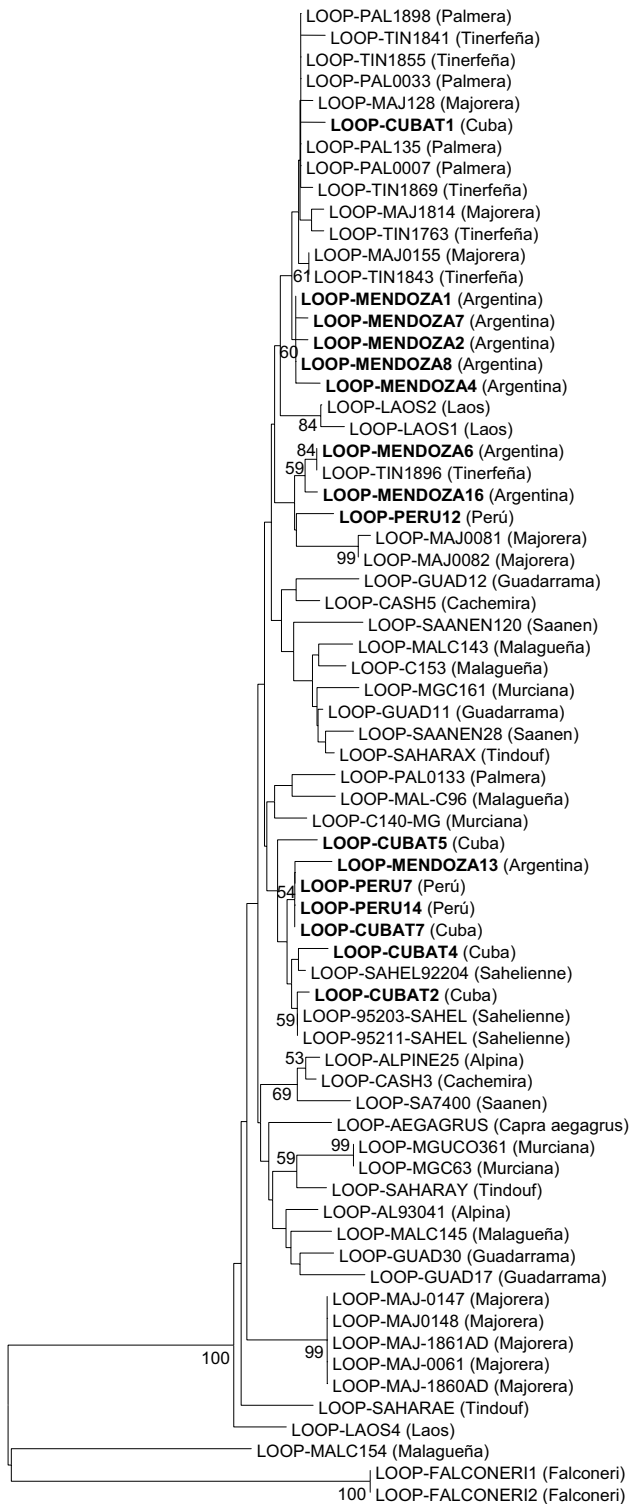
## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de Liliana Allegretti, Vladimir Ribera, Norge Fonseca y Jose A. Atto Mendives en la recogida de muestras

## REFERENCIAS

- Amills et al. 2004. J. Dairy Res.
- Capote et al. 2004. AGRI 35: 49-60.
- Joshi et al. 2004. Mol. Biol. Evol. 21: 454-62
- Kumar et al. 2001. Bioinformatics 17 : 1244-5
- Luikart et al. 2001. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 5927-32
- Pfeiffer et al. 2004. Forensic Sci. Int. 141: 149-51.
- Sultana et al. 2003. Anim. Genet. 34: 417-21

Figura 1. Árbol NJ de secuencias mitocondriales D-loop correspondientes a razas caprinas españolas, sudamericanas, europeas, africanas y asiáticas



0.01



## CARACTERIZACIÓN DEL GEN DE LA MALATO DESHIDROGENASA (MDH1) PORCINO.

Oriol Vidal<sup>1</sup>, José Luis Noguera<sup>2</sup>, Armand Sánchez<sup>1</sup> y Marcel Amills<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unitat de Ciència Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193.

<sup>2</sup>Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198.

### INTRODUCCIÓN

El enzima malato deshidrogenasa soluble (MDH1) participa en la biosíntesis de los ácidos grasos catalizando la reducción del oxalacetato a malato. Esta reacción resulta fundamental en el metabolismo de los ácidos grasos puesto que se genera el poder reductor, en forma de NADPH, necesario para la biosíntesis de los mismos. Además esta ruta bioquímica posibilita la transferencia de acetil-CoA desde la mitocondria al citosol por la vía del sistema de transporte del tricarboxilato.

El gen *MDH1* porcino ha sido mapeado en el cromosoma 3 (Wintero *et al.* 1998) y el cDNA ha sido secuenciado completamente (Trejo *et al.* 1996).

La finalidad principal de este trabajo ha consistido en secuenciar el cDNA *MDH1* de cerdos de distintas razas con el objetivo de identificar polimorfismos que puedan ser empleados en estudios de asociación con caracteres productivos, especialmente aquellos relacionados con el depósito de grasa.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Obtención de cDNA total porcino:* Se obtuvo el RNA total a partir de muestras de hígado de cerdos de las razas Piétrain, Large White, Landrace, Vietnamita e Ibérica. El RNA total se purificó mediante el preparado *Trizol reagent* (Gibco BRL, Life Technologies) y la síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el kit *ThermoScript RT-PCR System kit* (Invitrogen S.A.).

*Amplificación del cDNA MDH1:* Los oligonucleótidos empleados en la reacción de amplificación del cDNA de la *MDH1* fueron MDH2F: 5'-GAG TGC TTG TGA CTG GAG CA-3' y MDH9R: 5'-CAG GCA GAG GAA AGA AAT TCA-3'. El perfil térmico fue de 94 °C – 1 min, 60 °C – 1 min, 72 °C – 2 min durante 35 ciclos.

*Secuenciación del producto amplificado:* Los productos amplificados se secuenciaron mediante el kit *ABI PRISM Cycle sequencing kit* (Perkin Elmer Biosystems) utilizando los oligonucleótidos anteriormente citados. Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar *ABI PRISM 310* (Perkin Elmer Biosystems).

*Genotipaje del polimorfismo C→T del exón 7 del gen MDH1:* un fragmento del gen *MDH1* que incluye parte del exón 6, el intrón 6 y parte del exón 7 se amplificó mediante los oligonucleótidos MDH6F: 5'-TCA TCT GGG GAA ACC AT- y MDH7R: 5'-CTG GGG TTC CAA ACC AGA T-3'. El perfil térmico fue 94 °C – 1 min, 61 °C – 1 min, 72 °C – 2 min durante 35 ciclos. El producto amplificado fue purificado mediante el *ExoSAP-IT kit* (Amersham Biosciences Europe GmbH) y la mutación fue genotipada mediante el *SnaPshot™ ddNTP Primer Extensión kit* (Applied Biosystems). La secuencia del oligonucleótido usado en la reacción de extensión fue SNP7, 5'-ATA TAC TGC GGC AAA AGC CAT TTG TGA CCA-3'.

*Genotipaje de la inserción polimórfica LINE 1 del intrón 6 del gen MDH1:* un fragmento del gen *MHD1* que incluye parcialmente el intrón 6 se amplificó

mediante los oligonucleótidos MDHi6F: 5'- CCT GGG TGT CTC TCT AAG GGT G -3' y MDHi6R 5'- AGG AAA ACT GCA AAT CCT CAA AGA -3', situados a ambos lados del elemento LINE. El perfil térmico fue 94 °C – 1 min, 64 °C – 1 min, 72 °C – 1 min durante 35 ciclos.

*Análisis filogenético:* el análisis filogenético de las secuencia *MDH1 $\psi$*  obtenida con las secuencias de cerdo, de humano (número de acceso del ENSEMBL ENSG00000019179) y de ratón (número de acceso del ENSEMBL ENSG00000014641) se ha llevado a cabo con el programa MEGA v2.1 (Kumar et al. 2001), utilizando la distancia genética de Kimura con dos parámetros (Kimura 1980) para construir un árbol *neighbor-joining*.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se amplificó un fragmento del gen *MDH1* de 1 kb que abarca los exones 2 y 9 y se secuenció en diez individuos de distintas razas porcinas. Se detectó la presencia de un polimorfismo silencioso C→T<sub>759</sub> en el exón 7 del gen *MDH1* (Tabla 1).

**Tabla 1.** Frecuencias alélicas para la mutación identificada, calculada a partir de 10 individuos de cada raza. La posición de la mutación del gen *MDH1* (indicada mediante subíndices) está referida a la secuencia con número de acceso U44846.

GEN	MUTACION	RAZA		
		Large White	Piétrain	Landrace
MDH1	C <sub>759</sub>	0,63	0,31	0,29
	T <sub>759</sub>	0,37	0,69	0,71

En la reacción de amplificación llevada a cabo con los oligonucleótidos MDH6F y MDH7R, que se diseñaron para el genotipaje del polimorfismo, se amplificaron tres fragmentos de 1.700 pb, 1.400 pb y 700 pb.

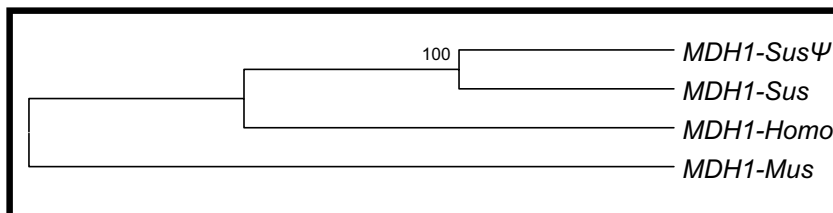
El alineamiento de las tres secuencias permitió determinar que los fragmentos de 0.7 kb y 1.4 kb corresponden a una región del gen *MDH1* porcino comprendida entre los exones 6 y 7 que difieren por la presencia/ausencia de una inserción de 0.7 kb correspondiente a un retrotransposón *long interspersed nucleotide element* (LINE) truncado en 5'. Esta inserción da lugar a dos alelos, que segregan en la distintas razas genotipadas (Tabla 2).

**Tabla 2.** Frecuencias alélicas para el polimorfismo generado por la presencia de una inserción de tipo L1Ss. Las frecuencias fueron calculadas en 118 cerdos de las razas Piétrain, Large White, Landrace, Ibérico y Meishan.

Polimorfismo LINE 1		LINE	NO LINE
Raza	Piétrain (N=24)	0,54	0,46
	Large White (N=24)	0,50	0,50
	Landrace (N=24)	0,30	0,70
	Ibérico (N=27)	0,10	0,90
	Meishan (N=19)	0,20	0,80

Por otra parte, el fragmento de 1.7 kb corresponde a una secuencia que presenta una similitud nucleotídica del 84 % con la secuencia del gen *MDH1* y que posee cuatro inserciones en tándem de *short interspersed nucleotide elements* (SINE) en el intrón 6. Aunque la secuencia identificada es parcial y no permite realizar un análisis filogenético en profundidad, el fragmento secuenciado se agrupa con la secuencia *MDH1* de cerdo (Fig. 1). Estos datos sugieren la existencia de un pseudogen *MDH1 $\psi$*  en el genoma porcino que probablemente ha surgido a través de un fenómeno de duplicación del gen *MDH1*. La presencia del intrón 6 en la secuencia *MDH1 $\psi$*  parece descartar que se trate de un pseudogen procesado.

**Figura 1.** Análisis filogenético de un fragmento de la secuencia *MDH1 $\psi$*  (exón 6 al 7) con las secuencias *MDH1* de cerdo, humano (número de acceso del ENSEMBL ENSG00000014641) y ratón (número de acceso del ENSEMBL ENSMUSG00000019179).



En definitiva, en el presente trabajo hemos caracterizado la existencia de dos polimorfismos en el gen *MDH1* porcino y hemos identificado una secuencia, que hemos denominado *MDH1 $\psi$* , compatible con la existencia de un pseudogen *MDH1 $\psi$*  en el genoma porcino. El próximo paso consistiría en realizar análisis de asociación entre los polimorfismos encontrados en el gen *MDH1* y caracteres productivos así como el cartografiado del locus *MDH1 $\psi$*  mediante un panel de células somáticas híbridas irradiadas.

#### AGRADECIMIENTOS

Gracias a CIA “El Dehesón del Encinar”, COPAGA y Nova Genètica por ceder las muestras de sangre y tejidos utilizadas en este estudio. El presente trabajo fue financiado con el proyecto FEDER (2FD97-0916-CO2-O2) y con una beca F.I. a Oriol Vidal (DGU, Generalitat de Catalunya).

#### BIBLIOGRAFÍA

- Kimura, M. (1980). Journal of Molecular. Evolution 16:11- 120.  
 Trejo F. et al. (1996). Gene 172:303-308.  
 Wintero et al. (1998). Mammalian Genome 9:366-372.

## ASOCIACIONES ENTRE GENOTIPO PrP Y CARACTERES PRODUCTIVOS EN OVINO LECHERO DE RAZA MANCHEGA Y LACAUNE: PRIMEROS RESULTADOS EN PROLIFICIDAD Y PESO AL NACIMIENTO<sup>1</sup>

Y. Moussaoui<sup>2</sup>, G. Caja<sup>2</sup>, J. Casellas<sup>2</sup>, X. Such<sup>2</sup> y O. Francino<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Grup de Recerca en Remugants, <sup>3</sup>Servei Veterinari de Genètica Molecular  
Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

El scrapie es una encefalopatía espongiforme transmisible (EET) de los ovinos y caprinos que se diagnosticó oficialmente en España en 2000 y que se encuentra actualmente sometida a un plan de seguimiento y control obligatorio a nivel de la UE. El mayor número de casos se ha descrito en la raza Rasa (Acín et al., 2004), aunque su incidencia actual en España es baja (<6 casos por millón en 2003; CE, 2004). Se han mostrado diferencias genéticas en la susceptibilidad al scrapie debidas al polimorfismo del gen que codifica la proteína PrP que se localiza en el cromosoma 13 de los ovinos. Se han establecido relaciones entre el polimorfismo del gen PrP y el riesgo a padecer scrapie. Así, los genotipos que poseen ARR (A, alanina; R, arginina) en los codones 136, 154 y 171, se consideran resistentes al scrapie. Por el contrario, los que presentan VRQ (V, valina; Q, ácido glutámico), o bien ARQ cuando el VRQ es poco frecuente (caso de las razas españolas), son más susceptibles (Hunter, 1997). La Unión Europea ha establecido una normativa referente al genotipado para el locus PrP de razas ovinas y a la implantación de programas de selección por resistencia al scrapie (Reglamento CE 1472/2004). Sin embargo, este objetivo condiciona la eficacia de selección para otros caracteres productivos al priorizar el genotipo ARR en la elección de reproductores, lo que es una fuente de controversia entre técnicos y ganaderos.

Este trabajo inicia el estudio comparativo de los efectos de distintos genotipos del gen PrP, sobre los caracteres productivos de un rebaño de ovejas lecheras españolas de raza Lacaune y Manchega, en condiciones controladas de producción.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 395 ovinos (Manchega, n = 198; Lacaune, n = 197) del rebaño lechero del S1GCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB de los que se disponían datos del control de producciones correspondientes a: la prolificidad (**PR**) de las ovejas y al peso al nacimiento (**PN**) de los corderos. El rebaño de Mn fue formado en 1985 a partir del de la ETSIA de la Universitat Politècnica de Valencia y se mantiene conectado a la raza por medio de inseminación artificial con machos mejorantes del esquema de selección de la raza del CERSYRA de Castilla-La Mancha (Valdepeñas). El rebaño de Lc se formó a partir de una importación en 1992 de animales de las Cooperativas francesas Ovitest (La Glène) y Confederation de Roquefort (Millau) y ha utilizado inseminación artificial en una ocasión. Los datos utilizados en el estudio corresponden al control de producciones de 1994-2004. El genotipado se realizó a partir de muestras de sangre obtenidas de acuerdo con la metodología del 'Programa Aries' del MAPA de España (<http://aries.mapya.es>), identificando los animales con bolos electrónicos y usando

<sup>1</sup> Trabajo incluido en la Tesis M.Sci. del CIHEAM-IAMZ.

tubos de 4 ml con EDTA como anticoagulante (BD Vacutainer K2E, Becton Dickinson Vacutainer Systems, Plymouth, UK) que se mantuvieron refrigerados hasta su análisis. El análisis se realizó en el Servicio Veterinario de Genética Molecular de la UAB, usando la técnica *Primer extensión análisis* descrita por Alvarez et al. (2003). En algunos animales (n = 23) se reconstruyó el genotipo a partir de sus ascendientes dado que ambos eran homocigotos. El modelo estadístico utilizado para evaluar las asociaciones entre caracteres productivos y genotipo PrP incluyó como efectos sistemáticos el ambiente común caracterizado por la oveja (**p**), la edad de la oveja al parto (**E**) y el genotipo del animal para PrP (**G**). En el caso del PN se incluyó además el año del parto (**A**), el sexo de los corderos (**S**) y el tipo de parto (**T**; simple = 1, múltiple = 2) que resultaron significativos a  $P < 0.05$ . Los modelos fueron:

$$PR_{ijkl} = \mu + p_i + E_j + G_k + \varepsilon_{ijkl}$$

$$PN_{jklmno} = \mu + p_i + E_j + G_k + A_l + T_m + S_n + \varepsilon_{ijklmno}$$

El tratamiento estadístico de datos se realizó utilizando el procedimiento MIXED de SAS v.8.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias de genotipos observadas para las dos razas en el rebaño del S1GCE (**Tabla 1**) son semejantes a las publicadas en el último informe oficial de situación del scrapie en la UE ([http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/bse/annual\\_report\\_tse2003\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/bse/annual_report_tse2003_en.pdf)) y que corresponden a: Lacaune (0.41 ARR/ARR; 0.46 ARR/X, X≠VRQ; 0.11 ARQ/ARQ; Otros, 0.02), Manchega (0.02 ARR/ARR; 0.20 ARR/X, X≠VRQ; 0.69 ARQ/ARQ; Otros, 0.09) y por lo que las muestras pueden considerarse representativas para ambas razas. Por otro lado la situación pone de manifiesto la necesidad de una selección en el caso de la raza Manchega para aumentar la frecuencia de los genotipos ARR.

**Tabla 1.** Frecuencias de distribución de los genotipos PrP en ovejas lecheras

Raza	n	Genotipo			
		ARR/ARR	ARR/ARQ	ARQ/ARQ	Otros
Lacaune	197	0.69	0.27	0.03	0.01
Manchega	198	0.01	0.30	0.65	0.04

Por otro lado, en la **Tabla 2** se muestran los valores de los caracteres productivos analizados según el genotipo PrP. No se apreciaron diferencias significativas en PR en relación a los efectos de los alelos ARR y ARQ. Estos resultados están en la línea de controversia discutida por Brandsma et al. (2005) en raza Texel con introgresión de genes Booroola, para la que los mismos autores indicaron falsas asociaciones de tipo positivo (Brandsma et al., 2004) entre el alelo ARR y PR. En el mismo sentido, Alexander et al. (2005) indicaron que no se observó ninguna asociación entre genotipo y PR en las razas norteamericanas Columbia, Hampshire, Rambouillet, mientras que la ausencia de R en el codón 171 tuvo un efecto pequeño pero positivo en la PR en la raza Suffolk y en cruces comerciales. Semejantes resultados han sido obtenidos en las razas españolas Rasa Aragonesa (Ponz et al., 2004) y Ripollés (Casellas et al., 2005). Nuestros resultados no muestran ninguna asociación con PR, pero la ausencia del alelo ARH, al que se atribuyen ventajas en las razas españolas, impide la comparación con los anteriores autores.

**Tabla 2.** Efectos del genotipo PrP sobre la prolificidad de las ovejas y el peso al nacimiento de los corderos (LSM  $\pm$  ES)

Raza	Genotipo	n	Prolificidad	n	Peso al nacimiento
Lacaune	ARR/ARR	127	1.77 $\pm$ 0.07	131	4.33 $\pm$ 0.10
	ARR/ARQ	42	1.68 $\pm$ 0.10	53	4.18 $\pm$ 0.11
	Efecto ( <i>P</i> =)	169	0.328	184	0.124
Manchega	ARR/ARQ	47	1.55 $\pm$ 0.08	59	4.37 $\pm$ 0.18
	ARQ/ARQ	170	1.54 $\pm$ 0.04	128	4.68 $\pm$ 0.12
	Efecto ( <i>P</i> =)	217	0.934	187	0.131

Estas diferencias podrían indicar la ausencia de efectos pleiotrópicos del gen PrP, con una posible influencia de algún otro gen ligado al mismo, tal como indican Casellas et al. (2005) para el caso de la PR.

Respecto a PN, puede sospecharse la existencia de una tendencia respecto a PN (*P* < 0.15) que fue de distinto signo según la raza, que deberá ser confirmada con un mayor número de animales, aunque resulta poco probable. Así, Alexander et al. (2005), Brandsma et al. (2005) y Casellas et al. (2005) no observaron ningún efecto del genotipo PrP sobre el PN y otras características relacionadas con el crecimiento. Para otros caracteres productivos (Roden et al., 2001; Prokopová et al., 2002; de Vries et al., 2005), incluida la producción de leche (Barillet et al., 2002; Parada et al., 2003) no se ha demostrado la existencia de asociación entre los genotipos PrP y los caracteres estudiados. La mayor parte de resultados obtenidos apoyan así la conclusión de Brandsma et al. (2005) de que no existe asociación del genotipo PrP con los principales caracteres productivos en ganado ovino.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acín C., Martín-Burriel I., Goldmann W., Lyahyai J., Monzón M., Bolea R., Smith A., Rodellar C., Badiola J.J. & Zaragoza P. 2004. *J. Gen. Virol.* 85:2103-2110.
- Alexander B.M., Stobart R.H., Russell W.C., O'Rourke K.I., Lewis G.S., Logan J.R., Duncan J.V. & Moss G.E. 2005. *J. Anim. Sci.* 83:455-459.
- Alvarez L., Arranz J.J. & San Primitivo F. 2003. *ITEA Prod. Anim.* 24(vol. extra):480-482.
- Barillet F., Andreoletti O., Palhière I., Aguerre X., Arranz J.M., Minery S., Soulas C., Belloc J.P., Briois M., Frégeat G., Teinturier P., Amigues Y., Astruc J.M., Boscher M.Y. & Schelcher, F. 2002. 7th World Congr. Genetics Applied Livestock Production, Montpellier, Francia. Comm. N° 13-20.
- Brandsma J.H., Janss L.L.G. & Visscher A.H. 2004. *Livest. Prod. Sci.* 85: 59-64.
- Brandsma J.H., Janss L.L.G. & Visscher A.H. 2005. *Livest. Prod. Sci.* 92: on line.
- Casellas J., Piedrafita J., Caja G., Bach, R & Francino O. 2005. *ITEA Prod, Anim.* 25 (vol. extra): en prensa.
- De Vries F., Hamann H., Drögemüller C., Ganter M. & Distl O. 2005. *J. Dairy. Sci.* 88:392-398.
- Hunter N. 1997. En: *The genetics of sheep.* L. Piper & A. Ruvinsky (Eds). CAB Int., London, UK. pp. 225-240.
- Parada A., Marcotegui N., Alfonso L. & Arana, A. 2003. *ITEA 24 (vol. extra):*438-440.
- Ponz R., Tejedor T., Laviña A. & Arruga M.V. 2004. *Jornadas Científicas de la SEOC, Lleida.* pp. 368-370.
- Prokopová L., Lewis R.M., Dingwall W.S. & Simm G. 2002. 7th World Congr. Genetics Applied Livestock Production, Montpellier, Francia. Comm. N° 13-44.
- Roden J.A., Haresign W. & Anderson J.M.L. 2001. *Proc. Brit. Soc. Anim. Sci.*, p 45.

## ASIGNACION INDIVIDUAL CON UN METODO DE GENOTIPOS MULTILOCUS EN BOVINOS

Quiroz Valiente J<sup>1</sup>, Martínez Martínez A.<sup>2</sup>, Martínez R. D.<sup>3</sup>, Armstrong E.<sup>4</sup>, Calderón J<sup>5</sup>. Delgado Bermejo J.V.<sup>2</sup>. <sup>1</sup> INIFAP-México. <sup>2</sup> Depto. de Genética, Universidad de Córdoba. España. <sup>3</sup> Universidad Nacional de Lomas De Zamora. Argentina. <sup>4</sup> Universidad de la República, Uruguay. <sup>5</sup> Estación Biológica Doñana. España

### INTRODUCCION

Uno de los factores que contribuye a la pérdida de diversidad es el económico. Recientemente, los sistemas de producción basados en explotación intensiva y razas de rápido crecimiento, son controvertidos por diversas razones, como el impacto ecológico de la producción, salud animal y sistemas sostenibles. Todo ello ha potencializado el interés en la conservación genética y el uso de razas autóctonas en los círculos ambientalistas, por estar ligadas a lo denominado en los últimos años, como desarrollo sostenible, lo cual, va relacionado con la adaptación de estas razas a su lugar de origen y con una mayor calidad de los productos y trabajos que ofrecen al hombre. La conservación de estas razas de ganado destacan que por su resistencia a enfermedades, gran fertilidad, buenas cualidades maternas, longevidad y adaptación a situaciones difíciles y a alimentos de baja calidad; características todas ellas deseables para una agricultura sostenible, con bajos insumos y para el logro de la seguridad alimentaria. Cada día va aumentando la necesidad de introducir razas domésticas en pastoreo, para preservar la riqueza ambiental, florística y faunística. La raza Marismeña, se mantiene asilvestrada en los municipios de Almonte e Hinojosa de Huelva, principalmente dentro del Parque Nacional de Doñana. Habita esta zona desde hace siglos, donde es explotada con los mismos métodos tradicionales (sin uso de insumos). Este núcleo ha servido como una población piloto que ha permanecido en aislamiento desde principios del siglo XIX, y hasta la fecha su explotación tiene un carácter ecológico. La característica de los sistemas de producción extensivos es que los controles de rendimiento y genealógicos son menos estrictos, por lo que podrían generar dudas sobre su procedencia. La necesidad de detectar la procedencia de los animales para el matadero puede ser importante para la protección y conservación de la raza, debido a que en la región empieza a tener un valor agregado la oferta de esta carne en los restaurantes de la zona. El análisis molecular puede usarse para determinar el origen de los animales y sus productos. El objetivo del trabajo fue desarrollar una evaluación preliminar de la asignación de los individuos de razas bovinas y determinar la especificidad intra e Inter-raza con el fin de poder realizar la trazabilidad de sus productos.

### MATERIAL Y METODOS

Se colectó sangre o pelo de 251 animales, 52 de la raza Marismeña y como razas de referencia Berrenda en Negro (32), Criollo Patagónico (36), Criollo Uruguayo (56), Frison (29) y Vaca Palmera (46). Se obtuvo el ADN siguiendo el protocolo de Kawasaki (1990) y se usó un panel de 21 microsatélites utilizados en el proyecto europeo de Biodiversidad Bovina (<http://www.projects.roslin.ac.uk/cdiv/markers.html>): BM1314 BM1818 BM1824 BM2113 BM8125 CSRM60 CSSM66 ETH10 ETH225 HAUT27 HEL13 HEL9 ILSTS11 ILSTS6 INRA32 INRA35 INRA63 MM12 TGLA122

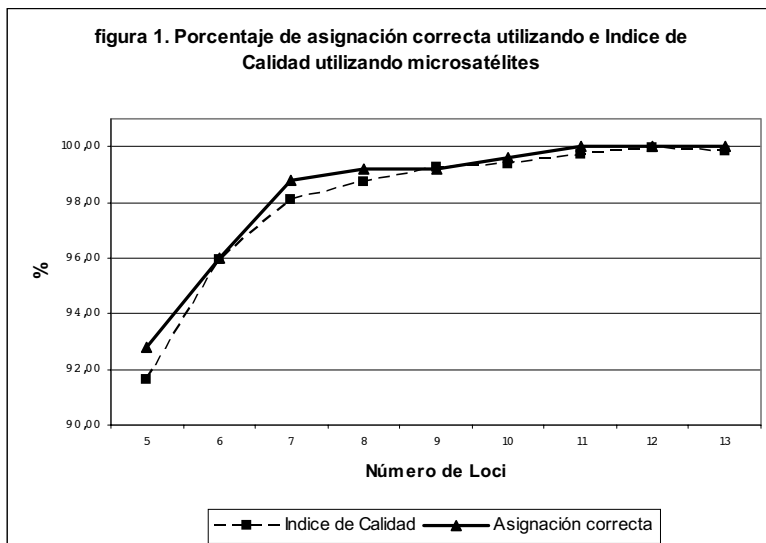
TGLA227 y TGLA53. La amplificación se realizó por PCR y la electroforesis se realizó en un secuenciador automático ABI 377 XL. La tipificación alélica se realizó con los paquetes informáticos Genescan v3.2.3 y Genotyper v2.5. Las características de estos microsatélites en la raza ya fueron evaluados y descritos por Quiroz y col. (2004).

La asignación de los animales a su raza se hizo con el paquete informático GeneClass versión 2.0 (Cornuet y col., 1999). Se utilizó el método de asignación *a posteriori* Bayesiano (Rannala y Mountain, 1995) a un nivel de probabilidad de 0.05, que parte del supuesto de que la población verdadera de origen fue muestreada. La puntuación para la asignación de cada individuo se calculó como la proporción de la verosimilitud calculada para cada raza y la calidad del índice como el promedio de la asignación correcta a la población de cada individuo. Primero se realizó la asignación con el panel de microsatélites mencionados y posteriormente, eliminando microsatélites se ejecutaron corridas comenzando con cinco microsatélites hasta obtener el número mínimo necesario para obtener la asignación correcta del 100% de los animales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La asignación de cada animal a la raza correspondiente se realizó correctamente en el 100% de los animales utilizando los 21 microsatélites.

En la figura 1 se presentan los resultados de la asignación con probabilidad de error de 0.05 utilizando de 5 a 13 microsatélites.



Se logró la asignación correcta de todos los individuos con 11 microsatélites. En la figura se aprecia que utilizando entre 5 y 7 tanto la asignación correcta como el índice de calidad aumentan en forma lineal de 92 a 98.4%. Posteriormente, utilizando de 8 a 11 el aumento es menor pero se alcanza el 100%. Cornuet y col



(1999), comentan que para obtener una correcta asignación se requiere utilizar microsatélites polimórficos y con alta heterocigosidad y contar con un mínimo de 15 individuos por población, para obtener porcentajes superiores al 90%.

El porcentaje de asignación correcta fue superior al obtenido por Arranz y col (2001) en ovinos españoles (95%). En bovinos Simmental Suizos MacHugh (1998) reporta una asignación correcta del 99%. En Portugal, Brito y col. (2003) obtuvieron 100% de asignación correcta en las razas Cachena y Frisia y 91 % en Barrosa, utilizando 19 marcadores. Por otra parte, Manel y col. (2002) concluyen que casi todos los individuos pueden ser asignados con un alto nivel de certeza estadística (99.9%) a dos poblaciones altamente diferenciadas ( $F_{st}=0.15$  -0.20) utilizando cuando se emplean 10 loci con heterocigosidades de entre 0.55 y 0.60 y muestras de 30 a 50 individuos por población. Los microsatélites utilizados en este trabajo mostraron unos valores de Heterocigosidad entre .55 y 0.65 y se obtuvo un  $F_{st}$  de 0.18 entre las razas incluídas en el mismo. En nuestro estudio se utilizaron razas en peligro de extinción, y se han mantenido aisladas durante muchos años y son genéticamente distintas (Quiroz y col. 2004). El modelo aquí presentado podría utilizarse en otras razas cuya trazabilidad sea de interés. La utilización entre 9 y 11 microsatélites para obtener una asignación poblacional correcta implica un costo similar al que se utiliza en las pruebas de exclusión de paternidad, por lo que se podrían utilizar las mismas bases de datos. Con este panel de microsatélites se podría garantizar la trazabilidad de los productos y animales provenientes de explotaciones que se manejan en extensivo apoyando los programas de recuperación de sistemas tradicionales.

#### REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS.

- Arranz, J.J. Bayón, Y. y San Primitivo, F. (2001). Differentiation among Spanish sheep breeds using microsatellites. *Genet. Sel. Evol.* 33, 529-542.
- Brito, N.V., Arranz, J.J., Bayón, Y., Colaco, J. y San Primitivo, F. (2003). The inclusion method based on multilocus genotypes, in the individual assignment of several indigenous cattle breeds of north Portugal. *Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias*. 98, 47-49.
- Cornuet JM, Piry S, Luikart G, Estoup A, Solignac M (1999). New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, 153,1989-2000.
- Kawasaki, E. (1990). Sample preparation from blood, cells and other fluids. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. 146-152. Academic Press Inc., New York.
- Machugh, D.E., Loftus, R.T., Cunningham, P. y Bradley, D.G., (1998). Genetic Structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellites markers. *Anim. Genet.*, 29, 330-340.
- Manel, S., Berthier, P. y Luikart, G. (2002). Detecting wildlife poaching: identifying the origin of individuals with Bayesian assignment test and multilocus genotypes. *Conservation Biology*. 16, 650-659.
- Quiroz, V.J. Martínez M. A.<sup>2</sup>, Martínez R. D. <sup>3</sup>, Armstrong E. <sup>4</sup>, Calderón J<sup>5</sup>. Delgado J.V. Relaciones genéticas de la raza mostrenca con otras razas bovinas. IV Congreso Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales. 15-17 de septiembre del 2004. Ponte de Lima, Portugal.
- Rannala, B., J. L. Mountain (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 9197-9221.

## **TRAZABILIDAD DE LA CARNE DE VACUNO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE 17 MARCADORES MICROSATÉLITE DE ADN**

Viana J.L., Bouzada J.A., Prado C., Areán H., Muíño R., López M. y Fernández A.

Laboratorio de Xenética Molecular. Xenética Fontao S.A., Fontao-Esperante, Apdo 128.  
27080 Lugo (España). [labxenmol@xeneticafontao.com](mailto:labxenmol@xeneticafontao.com)

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, los sistemas de trazabilidad o rastreabilidad aplicados para identificar a los animales, consignar sus desplazamientos y rastrear el origen de los productos pecuarios han experimentado un notable desarrollo. Recientes episodios sobrevenidos en Europa, como las crisis provocadas por la Encefalopatía Espongiforme Bovina o la Fiebre Aftosa, han afectado gravemente al comercio y puesto de relieve la necesidad de mejorar los métodos para el rastreo de los animales vivos y sus productos. En la Unión Europea, se han promulgado textos legislativos para aplicar mecanismos de rastreo que permitan conferir mayor seguridad a la sanidad animal, la salud pública, el comercio internacional y la certificación (Vallat B., 2001).

Los consumidores se preocupan cada vez más por la calidad de los productos alimenticios, su origen e integridad a través de la cadena alimentaria hasta el consumo. Se pueden aplicar diferentes procedimientos para asegurar el origen de los productos animales, como la doble identificación auricular, pasaporte, identificación de canales, etiquetas certificadoras, etc., no obstante, la verificación de actividades fraudulentas necesita de importantes esfuerzos, en las estrategias de control y en las técnicas para verificar “a posteriori” el origen de la carne. (Arana y cols., 2002).

Los sistemas de certificación de calidad como son las indicaciones geográficas, denominaciones de origen protegidas y especialidades tradicionales garantizadas, deben ser instrumentos que den respuestas a las mismas, ofreciendo máximas garantías e información objetiva a los consumidores y agentes económicos del sector dedicados a la comercialización de los alimentos. Galicia cuenta desde el año 1989 con la Indicación Geográfica Protegida Ternera Gallega, la carne comercializada bajo el amparo de esta I.G.P. es exclusivamente de terneros nacidos, criados y sacrificados en esta Comunidad Autónoma, que proceden de animales de las razas autóctonas gallegas y sus cruces. En todo el proceso productivo, que abarca desde el nacimiento de los terneros, su crianza, alimentación y cuidados sanitarios, hasta su sacrificio y presentación de la carne en los puntos de venta, Ternera Gallega sigue un riguroso programa de control integral, de acuerdo con lo establecido en la legislación vigente.

Cada animal difiere de sus congéneres por ser portador de una combinación única de ácido desoxirribonucleico (ADN), cuya transcripción engendra variaciones a nivel de las proteínas, lo que da origen a la diversidad individual que se expresa físicamente. En los últimos años, acceder al código genético de un animal ha dejado de presentar especial dificultad, la evolución de las técnicas de identificación biológica, ha generado un elemento de gran utilidad para el rastreo de los animales vivos y de los productos de origen animal. El uso de los marcadores de ADN

representa una herramienta útil para la identificación individual y, en consecuencia, para la identificación de la carne. (Cunningham y Meghen, 2001).

En el presente trabajo se presentan los primeros resultados obtenidos de la puesta a punto de un sistema para la realización de ensayos de trazabilidad de carne de vacuno, sacrificada bajo la Indicación Geográfica Protegida Ternera Gallega, mediante el análisis de 17 marcadores microsatélites de ADN.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para la realización del presente trabajo, se han analizado un total de 400 muestras biológicas de animales sacrificados por la Indicación Geográfica Protegida Ternera Gallega, realizando el muestreo en dos puntos de control diferentes con el objetivo de establecer un sistema lo más eficaz posible y, que a su vez, interfiera lo mínimo en las prácticas de trabajo rutinarias que se llevan a cabo en la industria cárnica. De esta manera, se tomaron muestras de 100 canales en matadero, que se denominaron muestras de referencia, y 300 muestras, tres por canal, en diferentes puntos de venta (comercio detallista y otras áreas comerciales mayores), que se denominaron muestras de verificación o control.

Se realizó la extracción de ADN a partir del material biológico muestreado, que consistió fundamentalmente en muestras de pabellón auricular, sangre y raíces de pelo, en el caso de las canales, y muestras de distintas piezas cárnicas en los puntos de venta. El método de extracción se realizó siguiendo el protocolo descrito por Genra Systems, Inc., para sangre entera (Generation® DNA Purification System: Capture Column™ Kit) y, para tejidos, el descrito por Applied Biosystems (NucPrep™ Chemistry: Isolation of Genomic DNA from Animal and Plant Tissue), empleando el equipo PrepStation ABI PRISM® 6100.

Para realizar la identificación genética o genotipado de las muestras, se ha diseñado una PCR multiplex, empleando un termociclador Dual 96W Geneamp PCR System 9700 de Applied Biosystems, analizando 17 loci microsatélite (BM1818, BM1824, BM2113, CSRM60, ETH3, ETH10, ETH185, ETH225, ILSTS006, INRA005, INRA023, INRA063, SPS115, TGLA53, TGLA122, TGLA126 y TGLA227), incluidos en la lista propuesta por la F.A.O. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) en estudios de biodiversidad en ganado vacuno y la I.S.A.G. (Sociedad Internacional para la Genética Animal) en los Test de Comparación Internacional de ADN Bovino organizados por esta sociedad en los últimos años. El tamaño y la nomenclatura alélica de los microsatélites, se realizó ajustándonos al de la muestra de referencia del test de comparación internacional ISAG 2001-2002 y siguiendo las recomendaciones de esta Sociedad (<http://www.I.S.A.G..org.uk/>).

El análisis de los polimorfismos de los microsatélites se realizó mediante electroforesis capilar de fragmentos de ADN marcados por fluorescencia, en el analizador genético ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer y empleando el software de análisis GeneMapper™ de Applied Biosystems. Para la verificación de la trazabilidad entre las muestras de referencia y las de verificación o control hemos diseñado una base de datos, que nos permite relacionar la información resultante del genotipado de los marcadores microsatélite propuestos y emitir un informe con los resultados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las 400 muestras biológicas estudiadas, se ha conseguido extraer el ADN de los diferentes tipos de tejido y amplificar los 17 microsatélites propuestos. Se han analizado tres muestras de verificación o control (punto de venta) por cada muestra de referencia (matadero), y solamente en dos de las 100 canales muestreadas hemos detectado diferencias entre el genotipo de la muestra de referencia y las de control, no existiendo problemas de trazabilidad en las 98 restantes.

En la tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para los 17 marcadores microsatélite en cuanto al número de alelos y rango alélico, en las 400 muestras analizadas. Es necesario tener en cuenta que, dado que se verificó la trazabilidad en 98% de las canales, realmente estos datos corresponden a 102 muestras con diferente genotipo. Además se presentan los marcajes y colores empleados para el análisis en el ABI Prism® 3100 Genetic Analyzer y el par cromosómico donde se localizan los marcadores.

Tabla 1. Marcadores microsatélite analizados. Rango alélico y número de alelos encontrados

Marcador	Cromosoma	Marcaje	Color	Rango (*)	Nº alelos
CSRM60	10	6-FAM <sup>TM</sup>	Azul	93-107	6
INRA005	12	6-FAM <sup>TM</sup>	Azul	118-124	4
INRA063	18	6-FAM <sup>TM</sup>	Azul	176-186	6
BM1818	23	6-FAM <sup>TM</sup>	Azul	252-276	7
TGLA126	20	VIC <sup>TM</sup>	Verde	113-125	6
TGLA122	21	VIC <sup>TM</sup>	Verde	137-183	13
INRA023	3	VIC <sup>TM</sup>	Verde	196-218	8
ILSTS006	7	VIC <sup>TM</sup>	Verde	287-303	9
ETH3	19	NED <sup>TM</sup>	Amarillo	109-131	6
ETH225	9	NED <sup>TM</sup>	Amarillo	140-158	7
BM1824	1	NED <sup>TM</sup>	Amarillo	178-190	6
ETH185	17	NED <sup>TM</sup>	Amarillo	220-240	9
TGLA227	18	PET <sup>TM</sup>	Rojo	77-103	10
BM2113	2	PET <sup>TM</sup>	Rojo	121-143	8
TGLA53	16	PET <sup>TM</sup>	Rojo	154-190	10
ETH10	5	PET <sup>TM</sup>	Rojo	209-225	6
SPS115	16	PET <sup>TM</sup>	Rojo	242-260	6

(\*) Ajustado al de la muestra de referencia del test de comparación internacional ISAG 2001-2002

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arana, A., Soret, B., Lasa I. and Alfonso L. (2002). Meat traceability using DNA markers: application to the beef industry. *Meat Science* 61 (2002): 367–373.

Cunningham, E.P. & Meghen, C.M. (2001). Rastreabilidad de animales y productos de origen animal. Sistemas de identificación biológica: marcadores genéticos. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 20 (2): 491-499.

Vallat, B. (2001). Rastreabilidad de animales y productos de origen animal. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 20 (2): 361

## **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN DE LA ACETIL-COA CARBOXILASA $\alpha$ (ACACA) PORCINA**

David Gallardo, Jordi Gillet, Óscar Ramírez, Armand Sànchez, Marcel Amills

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193.

### **INTRODUCCIÓN**

La acetil-CoA carboxilasa  $\alpha$  (ACACA) es un enzima citoplasmático fundamental para la biosíntesis de los ácidos grasos de cadena larga puesto que cataliza la formación de malonil CoA. A pesar que el gen de la ACACA se expresa de forma ubicua, dicha expresión es superior en tejidos lipogénicos como p.e. el tejido adiposo, el hígado y la glándula mamaria (durante la lactación). En humano, el gen ACACA tiene una longitud de 330 Kb mientras que el mRNA tiene un tamaño de 10 kb aproximadamente. Se han identificado 64 exones, incluyendo 7 exones alternativos denominados 1A, 1B, 1C, 3, 5A', 5A y 5B. Asimismo, se ha descrito la existencia de 3 promotores alternativos PI, PII y PIII situados de forma 5' adyacente a los exones 1, 2 y 5A, respectivamente (Mao et al. 2003).

En porcino, el gen ACACA ha sido cartografiado en el cromosoma 12 (Calvo et al. 2000). Asimismo, se ha demostrado que la actividad enzimática de ACACA está influida por factores relacionados con la edad, la raza y la nutrición. Por ejemplo, se ha demostrado que la suplementación de la dieta con ácido linoleico conjugado induce un incremento de la actividad de ACACA (Corino et al. 2003). Asimismo, en un experimento en el que se han comparado dos líneas Alentejana (AL) y Large White (LW) se ha observado que la actividad de ACACA es de 3 a 9 veces superior en los lechones AL que en los LW (Freire et al. 1998). Ello sugiere la existencia de factores genéticos que regulan la actividad de este enzima. El conocimiento de la secuencia del gen ACACA porcino y la identificación de polimorfismos que puedan ser empleados como marcadores en estudios de asociación resultarían fundamentales para comprender mejor la arquitectura genética de la biosíntesis de lípidos.

### **MATERIAL Y METODOS**

**Amplificación del cDNA ACACA porcino:** Se realizaron extracciones de RNA a partir de muestras de hígado correspondientes a 11 individuos de las razas Piétrain (1), Large White (1), Landrace (1), Ibérico (1), Meishan x Ibérico (1) y Duroc (6). Para ello se utilizó el protocolo descrito por Ramírez et al. (2003). La síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el ThermoScript RT-PCR System kit (Invitrogen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los oligonucleótidos empleados en la reacción de amplificación fueron:

- *Fragmento 1* (exón 3 a 13): ACC-1-FW; 5'-CTG GAG CTG AAC CAG CAC TC-3', ACC-1-REV; 5'-CCC ATG GCA ATC TGG AGC TG-3'.

- *Fragmento 2* (exón 11 a 24): ACC-2-FW; 5'-TGC TAC TCC AGC AGT ATT TGA ACA-3', AAC-2-REV; 5'-ATC ACC ACA GCC TTC ATG TG-3'.

- *Fragmento 3* (exón 22 a 38): ACACAF3-FW; 5'-GTT TCC CAG CCA GCA GAT TG-3', ACACAF3RV; 5'-AGT CAG TCC GGA CAT TTG TAT TG-3'.
- *Fragmento 4* (exón 37 a 46): ACC4N-F; 5'-GTG GGC ACA GAA GTG ACA GA-3', ACC4N-R; 5'-GTT GTG CAT GAT CTG GAT GC-3'.

Todos los oligonucleótidos empleados fueron diseñados mediante el software Primer Express 2.0 usando como molde la secuencia ACACA bovina (número de acceso de Genbank: NM\_174224). La composición de la reacción de PCR para los fragmentos 1 y 2 fue: 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 μM dNTPs, 0.5 μM de cada primer, 2-3 μl de reacción de transcripción reversa y 1 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 25 μl. El perfil térmico fue de un ciclo a 94 °C-3 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C-1 min, 67 °C-2 min, 72 °C-3 min y una extensión final a 72 °C-5 min. Las condiciones de la reacción de PCR para los fragmentos 3 y 4 fueron: 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 μM dNTPs, 0.2 μM de cada primer, 2-3 μl de reacción de transcripción reversa y 1 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 25 μl. El perfil térmico para el fragmento 4 fue de un ciclo a 94 °C-3 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C-1 min, 65°C-2 min, 72 °C-3 min y una extensión final a 72 °C-5 min. Las condiciones fueron las mismas para el fragmento 3 a excepción de la temperatura de hibridación que en lugar de 65 °C fue de 66 °C.

**Secuenciación del producto amplificado:** Los productos amplificados fueron purificados con el QIAquick Gel Extraction kit y se realizó la secuenciación de los mismos mediante el kit de secuenciación BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (version 3.1, Applied Biosystems). Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems). Para secuenciar el cDNA ACACA se emplearon los oligos ACC-1-FW, ACC1-SEQ-R; 5'-GAT CAT TAC TGG ATA TCC AAC TTC-3', ACACAF1RV-NESTED; 5'-CAT GGC AAT CTG CAG CTG T-3', ACC-2-FW, AAC-2-REV; ACC2-SEQ-F; 5'-GGC GGA CTT CAT GAA TTT GC-3', ACC2-SEQ-R; 5'-TTG GCT ATG ACA CAG CCA GG-3', ACACAF3-FW, ACACAF3RV, ACACAF3FW-INTERN; 5'-CTA TCT TCC TAT CGG CTA TTG ACA TG-3', ACC4N-F, ACC4N-R, ACC4-SEQ-F; 5'-CCT CCA GGC AGA ACT GAA AA-3'. Las secuencias obtenidas fueron alineadas mediante el programa Multalin (Corpet 1988) con la finalidad de identificar posibles posiciones polimórficas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha secuenciado un total de 4,3 Kb del gen ACACA porcino mediante la amplificación de cuatro fragmentos parcialmente solapados de aproximadamente 1,6 kb. El fragmento secuenciado incluye los exones 3 a 29 y 37 a 45, es decir un 66% de la región codificante. El análisis Blastn de esta secuencia ha permitido determinar que posee una similitud nucleotídica del 92-93% con las secuencias bovina (NM\_174224.2) y ovina (X80045.1). El alineamiento de la secuencia aminoacídica ACACA porcina con sus ortólogos bovino y ovino mediante el programa ClustalW evidenció también un elevado nivel de similitud (*percentage score* = 97-98). El análisis de la secuencia codificante con el programa Scan Prosite ha permitido identificar varios dominios funcionales característicos de este enzima:

un dominio biotin carboxilasa (BC), que contiene un lugar de unión al ATP, un dominio biotinil lipoil y un dominio carboxil transferasa (CT) El dominio BC está implicado en el proceso de carboxilación de la biotina mientras que el dominio funcional CT se encarga de transferir dicho grupo carboxilo de la biotina al sustrato aceptor, es decir al acetil-CoA.

Al comparar las secuencias nucleotídicas de los distintos individuos analizados hemos identificado ocho polimorfismos cuya posición está detallada en la Tabla 1. Todos los SNP identificados son silenciosos por lo cual, en principio, no resulta esperable que afecten a la función o a la expresión de la proteína. Actualmente, estamos procediendo a secuenciar las 3 kb restantes, que corresponden a las regiones 3'UTR y 5' y 3' codificante. La finalidad de este trabajo consiste en emplear los polimorfismos identificados para realizar un análisis de asociación con caracteres de engrasamiento, composición de ácidos grasos y metabolismo del colesterol en una población Duroc.

Tabla 1. Polimorfismos identificados en el gen de la ACACA porcina

Polimorfismo	Posición (codón)
C/G	462
T/C	542
C/T	738
T/G	771
G/A	1533
G/T	1702
T/G	1703
T/C	1732

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. J. L. Noguera del centro UdL-IRTA su contribución en la obtención de muestras de tejidos necesarias para el trabajo experimental. Este trabajo ha sido financiado con el proyecto CICYT *Arquitectura genética de los componentes lipídicos de la carne porcina relacionados con la calidad y la salud humana* (AGL2002-04271-C03-03).

### BIBLIOGRAFÍA

- Calvo et al. 2000. Cytogenet. Cell. Genet. 90: 238-239  
 Corino et al. 2003. J. Anim. Sci. 81: 2219-2229  
 Freire et al. 1998. Ann. Nutr. Metab. 42: 90-95  
 Mao et al. 2003. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 100: 7515-7520  
 Ramírez et al. 2003. ITEA 24: 447-449

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GEN DE LA LIPOPROTEIN LIPASA (LPL) CAPRINA

Bouabid Badaoui <sup>1</sup>, Juan Manuel Serradilla <sup>2</sup>, Jordi Jordana <sup>1</sup>, José Luis Ares <sup>3</sup>, Adolfo Falagán <sup>4</sup>, Juan Carrizosa <sup>5</sup>, Baltasar Urrutia <sup>5</sup>, Marcel Amills <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona.

<sup>2</sup> Departamento de Producción Animal, Universidad de Córdoba.

<sup>3</sup> Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA). Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA) de Córdoba.

<sup>4</sup> Departamento de Ciencia y Tecnología Agraria, Universidad Politécnica de Cartagena.

<sup>5</sup> Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Estación Sericícola. La Alberca (Murcia).

### INTRODUCCIÓN

La lipoprotein lipasa (LPL) es un enzima dimérico anclado en el endotelio que desempeña un papel fundamental en el metabolismo lipídico a través de la hidrólisis de los triglicéridos transportados por los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Goldberg et al 1996). Durante este proceso de hidrólisis se liberan ácidos grasos que son absorbidos por los tejidos periféricos, siendo oxidados y empleados como fuente de energía (p.e. en el músculo), o bien reesterificados en forma de triglicéridos y almacenados, tal como sucede en el tejido adiposo. En este sentido, la LPL actúa como un mediador importante en el mantenimiento de la homeostasis energética y la acumulación de la grasa en el tejido adiposo (Zechner et al. 2000). La LPL se expresa principalmente en el tejido adiposo y muscular. Se han detectado grandes diferencias en cuanto a los niveles de actividad de la LPL de la leche entre las razas Noruega (70  $\mu\text{mol FA/h/ml}$ ), Alpina (35  $\mu\text{mol FA/h/ml}$ ) y Saanen (21  $\mu\text{mol FA/h/ml}$ ) (Chilliard et al. 2003).

En humano, el gen *LPL* tiene 10 exones y la secuencia codificante posee un tamaño de 1.4 kb. Las regiones 5'UTR y 3'UTR tienen un tamaño aproximado de 0.17 y 1.9 kb respectivamente. La secuencia del cDNA *LPL* se ha descrito en ovino (Edward et al. 1993) y bovino (Senda et al. 1987). En el presente trabajo se ha abordado la caracterización molecular del gen *LPL* caprino con la finalidad de identificar SNP que puedan ser empleados como marcadores en estudios de asociación con caracteres de composición de la leche.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron extracciones de RNA a partir de muestras de hígado y glándula mamaria utilizando el reactivo Trizol (Gibco BRL). La síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el kit ThermoScript RT-PCR System Kit (Invitrogen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes:

*Fragmento 1 (F1)*: Los oligonucleótidos empleados fueron LPLEXO3-6FW; 5'-CTC AGG ACT CCC GAA GAC AC-3', LPLEXO3-6RV; 5'-AAG GGA TGT TCT CGC



TCT CA-3'. Las condiciones de la reacción de PCR fueron: 5 µl de tampón de PCR, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 µM de dNTPs, 0.5 µM de cada primer, y 1.25 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 50 µl. El perfil térmico fue de 94 °C-45 sec, 61 °C-30 sec, 72 °C-45 sec durante 35 ciclos.

*Fragmento 2:* Los oligonucleótidos empleados fueron LPL EXO7-8FW, 5'-GTT GCA ACA ACA TGG GCT AC-3', LPL EXO7-8RV; 5'-TGT TCA CTC ACT CTT GAC TAG TTG T. Las condiciones de la reacción de PCR fueron idénticas a las de F1, a excepción de la temperatura de *annealing* (66 °C).

*Fragmento 3:* Los oligonucleótidos empleados fueron LPLEXO9-10FW, 5'-GAA TGA AGT AAC TTT TAC AAA AGA CG-3'; LPL9-10RW, 5'-CAT GCT CGA AGT CTG ACT GAA-3'. Las condiciones de la reacción de PCR fueron idénticas a las de F1, a excepción de la temperatura de *annealing* (57.8 °C)

*Fragmento 4:* Los oligonucleótidos empleados fueron LPLEXO1-2FW, 5'-AAA CCT GCC GCT TCT AGC TC-3', LPL-12RW, 5'-TGG AGT CTG GTT CCC TCT TG-3'. Las condiciones de la reacción de PCR fueron idénticas a las de F1, a excepción de la concentración de magnesio (2 mM) y la temperatura de *annealing* (62.2 °C).

El producto amplificado se secuenció mediante el kit de secuenciación BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems). Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar ABI Prism 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han amplificado 4 fragmentos de un tamaño de 0,9, 0,84, 0,80 y 0,42 kb que abarcan la totalidad de la secuencia codificante y parte de las regiones 5'UTR y 3'UTR del gen *LPL* caprino. La secuencia consenso *LPL* caprina fue comparada mediante el programa Blastn con las secuencias almacenadas en la base de datos Genbank, observándose una similitud nucleotídica del 99%, 97%, 91% y 90% con sus ortólogos ovino, bovino, porcino y humano, respectivamente. La similitud aminoacídica con las secuencias ovina y bovina fue del 99%, lo cual indica el elevado grado de conservación de esta proteína. El análisis de la secuencia aminoacídica mediante el programa Scan Prosite ha permitido identificar dos motivos estructurales muy conservados (Figura 1):

1-Un dominio **PLAT**, que podría estar implicado en interacciones proteína-proteína o proteína-lípido. El dominio PLAT posee una estructura en hoja β-plegada constituida por dos láminas de 4 cadenas cada una.

2-Un dominio **lipasa** de 10 aminoácidos en el cual se halla un residuo serina que, junto con otros dos residuos histidina y aspartato, forman parte de un sistema de transferencia de protones (*charge relay system*).

MESKALLLLALS VWLQSLTVSHGGLVAADRITGGKDFRDIESKFALRTPEDTAEDT  
CHLIPGVTESVANCHFNHSSKTFVVIHGWTVTGMYESWVPKLVAALYKREPDSN  
VIVVDWLSRAQQHYVVSAGYTKLVGQDVAKFMNWMMADEFNYPLGN**VHLLGYSL**  
**GA**HAAGIAGSLTSKKNRITGLDPAGPNFEYAEAPSRLSPDDADFDVLDLHTFTRG  
SPGRSIGIQKPVGHVDIYPNGGTFQPGCNIGEALRVIAERGLGDVDQLVKCSHER  
SVHLFIDSLLEENPSKAYRCNSKEAFEKGLCLSCRKNRCNNMGYEINKVRAKRS  
SKMYLKTRSQMPYKVFHYQVKIHFSGTESENTYTNQAFEISLYGTVAESENIPFTLP  
EVSTNKTYSFLLYTEVDIGELLMMLKLVKWDSDSYFSWSNWWSSPGFDIGKIRVKAG  
ETQKKVIFCSREKMSYLQKGGKSPVIFVKCHDKSLNRKSG

Figura 1. Secuencia aminoacídica de la LPL caprina: Se han indicado los dominios lipasa (en negrilla y doble subrayado) y PLAT (subrayado).

El próximo objetivo consistirá en secuenciar el cDNA *LPL* de distintos individuos de raza Murciana, Malagueña y Payoya con la finalidad de identificar polimorfismos y realizar estudios de asociación en una población de cabras Murcianas para las que se dispone de datos de control lechero. La caracterización molecular del gen *LPL* caprino y otros genes relacionados con el metabolismo lipídico resultará fundamental para comprender mejor los factores genéticos que gobiernan el contenido en grasa de la leche.

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado mediante el proyecto CICYT *Efectos de los haplotipos de los genes de las caseínas y de genes relacionados con el metabolismo de ácidos grasos sobre la composición y propiedades de la leche de la cabra Murciano Granadina* (AGL2002-04304-C03-02-GAN). Bouabid Badaoui es becario del CIHEAM-IAMZ.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chilliard et al. (2003). *Journal Dairy Sci.* 86: 1751-1770  
Edward et al. (1993). *Biochim. Biophys. Acta* 1171: 167-170  
Goldberg et al. (1996). *J. Lipid Res.* 37: 693-707.  
Senda et al. (1987). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84: 4369-4373  
Zechner et al. (2000). *J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 24: S53-56

## ANÁLISIS COMPARATIVO DE GENES DE PERDIZ ROJA Y CHUKAR MEDIANTE CARACTERIZACIÓN POR SNPS.

García, C. B. y Arruga, M. V.

Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular. Facultad de Veterinaria.  
C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

### INTRODUCCIÓN

La escasa información genética de que se dispone acerca de la perdiz roja (*Alectoris rufa*) (Arruga *et al.*, 1996, 1998; Saz *et al.*, 1998), así como el interés de esta especie tanto por su valor cinegético como por su valor ecológico ha hecho necesario ampliar su estudio para tener un mayor conocimiento genético acerca de la misma.

La perdiz roja es un ave que habita principalmente en la Península Ibérica, Sur de Francia y algunos puntos del Norte de Italia y Sur de Inglaterra. Diversos factores han ocasionado un descenso en el número de ejemplares en el campo haciendo necesaria la aparición de granjas de perdices para repoblaciones y sueltas. Aunque legalmente sólo se permite la suelta de ejemplares de perdiz roja ha surgido el problema de ciertas granjas que entre sus reproductores cuentan con individuos cruzados con otras especies (principalmente perdiz chukar o *A. chukar* y perdiz griega o *A. graeca*) ya que con estos últimos se consigue una mayor productividad. Estos animales cruzados a veces son indiferenciables fenotípicamente de perdices rojas y como problema adicional añadido son capaces de reproducirse normalmente contaminando la base genética de perdiz roja pura silvestre.

Hasta el momento existen pocos datos de secuenciación del DNA genómico de la perdiz roja ya que sólo aparece una secuencia de un gen nuclear, el gen del *ovomucoide* en la base de datos de GenBank. Casi todas las secuencias depositadas hasta la fecha en GenBank son de su DNA mitocondrial. Para especies aviares que han sido poco estudiadas hasta el momento existe la posibilidad de ampliar el conocimiento de su genoma a partir de análisis comparativo de genoma con especies más estudiadas como es principalmente el pollo (*Gallus gallus*) (Smith *et al.*, 2000; Shi *et al.*, 2001; Primmer *et al.*, 2002; Kasai *et al.*, 2003). Se ha estudiado un fragmento del gen de la *hormona de crecimiento* (*GH*) de pollo tanto en perdiz roja como en perdiz chukar, ya que el crecimiento de ambas especies es diferente. para lograr una mayor secuenciación de sus genomas así como para intentar encontrar diferencias entre ambos en forma de SNPs interespecíficos. El gen de la *hormona de crecimiento* (*GH*) del pollo consta de cinco exones y cuatro intrones (Tanaka *et al.* 1992) y es un gen altamente polimórfico (Fotouhi *et al.*, 1993; Kuhnlein *et al.*, 1997; Yung *et al.*, 1998; Leung *et al.*, 1999). También se han seleccionado unos cebadores que hibridan en dos exones consecutivos de del gen *LRP/p40* para intentar encontrar variaciones nucleotídicas principalmente en los intrones. Se seleccionó el locus *LRP/p40* de *G. gallus* por ser el de una mayor frecuencia de SNP ( $\text{bp}^{-1}$ ) en estudios de caracterización de SNP aviares realizados previamente (Primmer *et al.*, 2002). Finalmente se ha estudiado el gen *MC1R* (*melanocortin 1-receptor*) debido a las diferencias en el color de plumaje de ambas especies de perdices. Mutaciones de este gen han sido asociadas con el color de plumas en el pollo (Kerje *et al.*, 2001; Ling *et al.*, 2003).

Se ha elegido la búsqueda de SNPs como técnica de estudio debido a su abundancia en el genoma y a que estos marcadores son heredados más establemente que otros como son las secuencias repetidas (Landegren *et al.*, 1998)

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha partido de muestras de DNA de perdices rojas y perdices chukar extraídas a partir de tarjetas FTA<sup>®</sup> empapadas con sangre.

Se usaron las secuencias de los cebadores del gen *LRP/p40* (con número de acceso de GenBank: X94368) ya probadas en otras especies en anteriores estudios (Primmer *et al.*, 2002) y que hibridan en los exones 5 y 6 de dicho gen.

Para el diseño de los cebadores para los genes *GH* (con número de acceso de GenBank: AB061722) y *MC1R* (con número de acceso de GenBank: D78272) se utilizó el programa primer3 (Rozen & Skaletsky, 1998).

Las amplificaciones para cada gen se realizaron a unas temperaturas de hibridación de 63 °C para el gen *MC1R*, 64 °C para el gen *GH* y de 67 °C para el gen *LRP/p40*.

Los productos de PCR fueron secuenciados y se empleó el programa BioEdit (Hall, 1999) para el alineamiento de las secuencias resultantes con la opción de ClustalW multiple alignment y su posterior análisis y búsqueda de SNPs. Para el alineamiento se utilizaron las secuencias en ambos sentidos de cada animal para establecer una secuencia consenso para cada uno y finalmente proceder a la comparación con la secuencia original de pollo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el gen *GH* se secuenciaron 11 animales, 6 perdices rojas y 5 perdices chukar. Se compararon 201 pares de bases y se han encontrado 17 posiciones en las que había un cambio nucleotídico en pollo con respecto a la secuencia consenso de las dos especies de perdices y 1 gap en las perdices en el mismo tipo de comparación. Para la diferenciación de perdiz roja y perdiz chukar se encontraron 2 SNPs interespecíficos tratándose en ambos casos de una transición.

Para estudiar el gen *LRP/p40* también se secuenciaron 6 perdices rojas y 5 perdices chukar. La comparación se realizó con 314 pares de bases y se identificaron 14 SNPs entre el pollo y las perdices, 15 gaps en pollo y 3 gaps en perdices. Al comparar *A. rufa* con *A. chukar* no se obtuvieron SNPs interespecíficos.

Por último se estudió el gen *MC1R*. Se secuenciaron y analizaron los resultados de 5 animales, 3 de ellos *A. rufa* y 2 *A. chukar* y se compararon 336 pares de bases. En 5 posiciones aparecieron SNPs entre las especies de pollo y perdiz. No se encontraron variaciones nucleotídicas específica para cada especie de perdices.

Las secuencias de los genes para cada especie de perdiz están depositadas en la base de datos de GenBank con los números de acceso: AY606819, AY606820, AY606821, AY606822, AY762966 and AY762967.

En total se han localizado 57 posiciones diferentes (incluyendo gaps) entre el pollo y la perdiz, de las 851 pares de bases estudiadas. Así aunque las secuencias de pollo nos han servido de punto de partida para comenzar el estudio de esos mismos genes en perdiz, se ha demostrado que existe bastante variación entre estas especies. Los SNPs más abundantes han sido las transiciones

En cuanto a la búsqueda de SNPs interespecíficos de perdiz roja y perdiz chukar también se han conseguido avances pues se han localizado 2 SNPs, que sirven para la caracterización de estas especies. Como era de esperar las variaciones nucleotídicas entre estas dos especies del mismo género *Alectoris* han sido menores que entre especies de diferente género. De estas variaciones la mayoría han sido también transiciones.

Con este trabajo se ha conseguido que haya un mayor conocimiento de la base genética de la perdiz chukar a la vez que de la perdiz roja y se ha creado un punto de referencia nuevo para tratar de identificar ejemplares de perdices como una especie u otra a través del DNA mediante el diagnóstico por SNPs interespecíficos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arruga, M. V.; Tejedor, M. T.; Villarroel, M. R.; Heriz, A.; Ferreira, E.; Abenia, F. J. 1996. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 74: 228.
- Arruga, M. V.; Tejedor, M. T.; Saz, J.; Monteagudo, L. V.; Villarroel, M. 1998. *Expoaviga*, 98: 9-14.
- Hall, T. A. 1999. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.
- Kasai, F.; Garcia, C. B.; Arruga, M. V. and Ferguson-Smith, M. 2003. *Cytogenetics and Genome Research*, 102: 326-330.
- Kerje, S.; Lind, J.; Schütz, K.; Jensen, P.; Andersson, L. 2001. *Animal Genetics*, 34: 241-248.
- Landegren, U.; Nilsson, M.; Kwok, P.-Y. 1998. *Genome Research*, 8(8): 769-776.
- Leung, FC, Zhang X-Q, Ip SC-Y. 1999. *Poultry Science* 78(Supp. 1): 61.
- Ling, M. K.; Lagerström, M. C.; Fredriksson, R.; Okimoto, R.; Mundy, N. I.; Takeuchi, S.; Schiöth, H. B. 2003. *European Journal of Biochemistry*, 270: 1441-1449.
- Primmer, C. R.; Borge, T.; Lindell, J.; Saetre, G. P. 2002. *Molecular Ecology*, 11: 603-612.
- Rozen, S.; Skaletsky, H. J. 1998. Primer3. Code available at [http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3.cgi/primer3\\_www.cgi](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3.cgi/primer3_www.cgi)
- Saz, J.; Arruga, M. V.; Tejedor, M. T.; Villarroel, M.; Savva, D. 1998. *Hungarian Journal of Animal Production*, 48(1): 86-89.
- Shi, L.; Drummond, P.; De Kloet, S.; Pimentel-Smith, G. E.; Smith, E. J. 2001. *Genetica*, 110: 227-230.
- Smith, E.; Shi, L.; Drummond, P.; Rodriguez, L.; Hamilton, R.; Powell, E.; Nahashon, S.; Ramlal, S.; Smith, G.; Foster, J. 2000. *Animal Genetics*, 31: 62-67.
- Tanaka, M.; Hosokawa, Y.; Watahiki, M.; Nakashima, K. 1992. *Gene*, 112(2): 235-239.
- Fotouhi, N.; Karatzas, C. N.; Kuhnlein, U.; Zadworny, D. 1993. *Theoretical and Applied Genetics*, 85: 931-936.
- Kuhnlein, U.; Ni, L.; Weigend, S.; Gavora, J. S.; Fairfull, W.; Zadworny, D. 1997. *Animal Genetics*, 28: 116-123.
- Yung, W.; Chan, C.; Leung, F. 1998. *Poultry Science* 77(Supp. 1): 6.

## ANÁLISIS PRELIMINAR DE DOS POBLACIONES DE PONI CÉLTICO DE ASTURIAS USANDO MARCADORES MICROSATÉLITES.

L.J. Royo<sup>1\*</sup>, I. Álvarez<sup>1</sup>, I. Fernández<sup>1</sup>, J.P. Gutiérrez<sup>2</sup>, J.L. Martínez<sup>3</sup>, E. Gómez<sup>1</sup> y F. Goyache<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias);

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid; <sup>3</sup>Citometría e Inmunotecnología, Universidad de Oviedo, Oviedo (Asturias); \*e-mail: [ljroyo@serida.org](mailto:ljroyo@serida.org)

### INTRODUCCIÓN

La recuperación del Poni de raza Asturcón llevada a cabo por la asociación de criadores ACPRA (<http://www.asturcones.com/>) se ha basado fundamentalmente en individuos de capa negra. Recientemente se ha planteado la necesidad por parte de la Asociación de Criadores “García Dory” de la toma de urgentes medidas de protección sobre la población conocida como “Caballos de Corro” de Asturias, Asturcón Occidental o Asturcón Castaño. Esta población de animales ha sido descrita repetidas veces en tratados etnológicos durante todo el siglo XX (SOTILLO y SERRANO, 1985), existiendo grandes evidencias históricas de que hasta mediados del siglo pasado era la población de poni céltico mayoritaria en Asturias. El proyecto RZ03-011, financiado por el INIA, prevé la caracterización de ambas poblaciones de Poni Asturcón, al objeto de poder recomendar, a las asociaciones de ganaderos y administraciones públicas, estrategias coordinadas de conservación y gestión (GOYACHE et al., 2005). El análisis del ADN mitocondrial (secuenciación de la región de control de la replicación y cit B) no permitió apreciar diferencias significativas entre las dos poblaciones (ROYO et al., 2004). La presente comunicación pretende iniciar la caracterización de las dos poblaciones de ponis de Asturias con marcadores somáticos de tipo microsatélite.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han genotipado 51 individuos de la población de Caballo de Corro Asturiano, lo que supone la práctica totalidad de la población viva, con 16 marcadores microsatélites: AHT4, AHT5, ASB17, ASB2, ASB23, CA425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, HYG10, HTG4, HTG6, HTG7 y VHL20. Además se han analizado 23 individuos obtenidos al azar de la población de Poni de raza Asturcón gestionada por ACPRA, por lo que la población total analizada fue de 74 animales. Mediante el programa MolKin (ÁLVAREZ et al., 2005) se han calculado los siguientes parámetros: número de alelos medio por locus ( $k$ ), la heterocigosidad observada ( $H_o$ ), el contenido de información polimórfico (PIC), los estadísticos  $F_{ST}$  y  $F_{IS}$ . Utilizando el mismo programa se ha calculado la distancia de distancia de Reynolds [ $D_R = -\ln(1 - F_{ST})$ ] entre individuos. La matriz de distancias de Reynolds ha sido proyectada en un árbol filogenético mediante el algoritmo UPGMA utilizando el programa MEGA2 (Kumar et al., 2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros descriptivos de la variabilidad genética encontrada en la población analizada se detallan en la Tabla 1. En términos generales, la población de poni castaño presenta mayores valores de heterocigosidad observada, PIC y número medio de alelos que la población de Poni Asturcón. Como el número medio de alelos está muy influido por el tamaño muestral se ajustó para este efecto mediante el método de “rarefaction” (HURLBERT, 1971) con los siguientes valores: 4,8 para el Poni Asturcón y 6,3 para la población de poni Castaño. La diferenciación entre poblaciones evaluada mediante estadístico  $F_{ST}$  fue de 0,026 y los valores  $F_{IS}$  fueron de 0,18 para el Poni Asturcón y de 0,09 para el poni Castaño. Ambas poblaciones presentan un escaso grado de diferenciación y un claro defecto de heterocigotos como consecuencia del reciente cuello de botella genético que han sufrido ambas poblaciones. Esta pérdida de variabilidad es mayor en los animales asturcones analizados como consecuencia de la deriva producida desde la recuperación de la raza que ha provocado la pérdida de una gran cantidad de líneas fundadoras (GOYACHE et al., 2005).

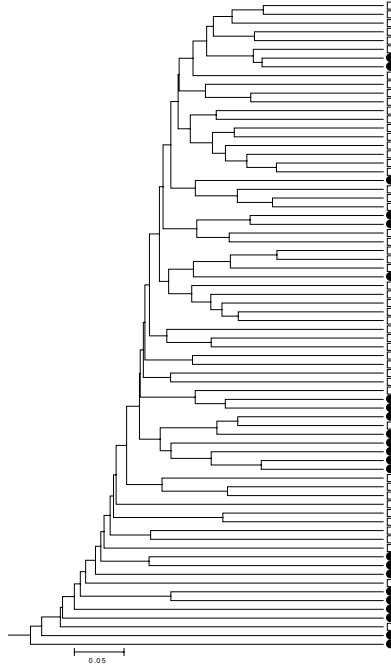
Tabla 1: Número medio de alelos por marcador (k), heterocigosidad observada (Ho), contenido de información polimórfico (PIC) para toda la población analizada y para la población de Poni Asturcón y poni Castaño (número de animales entre paréntesis).

Marcador	Población								
	Muestra completa (74)			Asturcón (23)			Castaño (51)		
	k	Ho	PIC	k	Ho	PIC	k	Ho	PIC
AHT4	9	0,818	0,703	7	0,730	0,606	9	0,835	0,714
AHT5	7	0,730	0,502	5	0,597	0,310	7	0,765	0,569
ASB17	8	0,779	0,625	5	0,771	0,604	8	0,778	0,627
ASB2	8	0,789	0,658	5	0,758	0,609	8	0,784	0,648
ASB23	9	0,834	0,700	5	0,691	0,507	9	0,836	0,705
CA425	8	0,747	0,538	6	0,706	0,477	8	0,750	0,548
HMS1	7	0,715	0,508	3	0,574	0,331	7	0,767	0,582
HMS2	9	0,834	0,715	6	0,778	0,630	9	0,815	0,678
HMS3	8	0,786	0,616	5	0,684	0,508	8	0,803	0,647
HMS6	6	0,783	0,583	5	0,735	0,487	6	0,788	0,604
HMS7	10	0,777	0,647	5	0,717	0,528	10	0,760	0,628
HTG10	14	0,889	0,791	7	0,729	0,550	14	0,890	0,790
HTG4	6	0,621	0,416	5	0,716	0,558	6	0,526	0,327
HTG6	12	0,861	0,741	5	0,754	0,529	11	0,856	0,760
HTG7	5	0,742	0,569	4	0,742	0,564	5	0,734	0,562
VHL20	8	0,814	0,665	5	0,738	0,560	8	0,812	0,666
Medias	8,4	0,624	0,782	5,2	0,714	0,522	8,6	0,826	0,661

El árbol filogenético que se encuentra en la Figura 1 refleja el hecho de la escasa diferenciación existente entre ambas poblaciones. No se encuentran agrupamientos claros entre los animales de ambas poblaciones y los animales

de Poni Asturcón se encuentran distribuidos uniformemente entre los animales de la población Castaña.

Figura 1: Árbol filogenético calculado mediante el algoritmo UPGMA y las distancias de Reynolds entre individuos en la población analizada. Los círculos negros representan animales de raza Asturcón y los cuadrados animales de poni de capa castaña o Caballo de Corro.



El presente análisis es congruente con los realizado previamente sobre ADN mitocondrial. Desde un punto de vista genético la mayor fuente de diferenciación de ambas poblaciones sería que la población de Poni Asturcón tiene prácticamente fijado el carácter de la capa negra mientras que en la población de Caballo de Corro segregan las capas negras y castañas (ROYO et al., 2005). Este trabajo ha sido financiado por el INIA mediante el proyecto RZ03-011. Los autores agradecen a ACPRA (<http://www.asturcones.com/>) y a la Asociación García-Dory el total apoyo prestado para su realización.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ et al., 2005. J. Anim. Sci., en prensa.  
GOYACHE et al., 2005. ITEA Vol. Extra, en prensa  
HURLBERT S. H., 1971. Ecology 52: 577-586.  
KUMAR et al., 2001. Bioinformatics, 17:1244-1245.  
ROYO et al., 2004. ITEA, en prensa.  
ROYO et al., 2005. 56th Annual Meeting EAAP. Uppsala (Sweden), en prensa.  
SOTILLO J.L. y SERRANO V. 1985. Ediciones Tebar-Flores, Madrid, Spain.



## **FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DEL GEN PRNP EN LA RAZA OVINA XALDA DE ASTURIAS EN RELACIÓN CON EL COLOR DE LA CAPA.**

Isabel Álvarez<sup>1</sup>, Iván Fernández<sup>1</sup>, Félix Goyache<sup>1</sup>, Juan José Arranz<sup>2</sup>, Juan Pablo Gutiérrez<sup>3</sup>, Enrique Gómez<sup>1</sup>, Luis José Royo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias);

<sup>2</sup>Dpto. Producción Animal, Facultad de Veterinaria, 24071 León;

<sup>3</sup>Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid;

\*e-mail: [ljroyo@serida.org](mailto:ljroyo@serida.org)

### **INTRODUCCIÓN**

La raza Xalda de Asturias es una población ovina en riesgo que presenta gran similitud morfológica con otras razas ovinas del Arco Atlántico Europeo como la Ouessant o la Morite. La raza ovina Xalda está encuadrada dentro del tronco churro (ÁLVAREZ et al., 2004), y dentro de este grupo parece estar más genéticamente relacionada con las poblaciones ovinas atlánticas (ÁLVAREZ et al., 2004, 2005). En 1992 se funda la asociación de criadores de la raza (ACOXA) y comienza el funcionamiento del Libro Genealógico (GOYACHE et al., 2003). En el Libro Genealógico se recogen datos sobre el color de la capa de los animales (blanca, negra). ACOXA lleva seleccionando a favor del color negro desde su fundación, y a pesar de ello, todavía existen numerosos individuos de capa blanca en los rebaños de Xalda. En la raza Xalda las capas negras segregan de forma compatible con un patrón recesivo.

El gen PRNP ovino está localizado en el cromosoma 13 (SCHLÄPFER et al., 2000). En este mismo cromosoma PARSONS et al. (1999) han localizado mediante marcadores microsatélite un QTL para color negro de la capa. La normativa de la Unión Europea que obliga al genotipado de los diferentes alelos del gen PRNP de todos los ovinos inscritos en libros genealógicos para seleccionar aquellos alelos con menor susceptibilidad a las Encefalitis Espongiformes Transmisibles puede afectar a la selección a favor del fenotipo negro en la raza Xalda.

El objetivo de esta comunicación es presentar las frecuencias alélicas y genotípicas del gen PRNP ovino que se han encontrado en la población ovina de raza Xalda y testar mediante pruebas estadísticas sencillas una posible asociación de los genotipos encontrados con la capa negra.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En el marco del ensayo interlaboratorial coordinado desde el Laboratorio Central Veterinario de Algete, se ha diseñado un protocolo diagnóstico de los alelos del gen PRNP basado en reacciones de multiplex-PCR alelo específica. Este protocolo diagnóstico ha sido recientemente validado por el citado Laboratorio Nacional de Referencia. Utilizando este protocolo se han genotipado 478 animales para los alelos del gen PRNP descritos en el proyecto

de Real Decreto y partir del libro genealógico de la Xalda se han obtenido los registros de color de la capa de dichos animales. Se ha utilizado el procedimiento FREQ del paquete estadístico SAS, para realizar estudios de asociación entre cada genotipo del gen PRNP y el color de la capa de los animales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se describen las frecuencias alélicas del gen PRNP en la raza Xalda. El alelo ARQ es el más frecuente (78%) al igual que en la mayoría de las razas estudiadas. El alelo VRQ se encuentra en una frecuencia menor del 2% por lo que su erradicación en la raza Xalda no parece presentar problemas.

Tabla 1: Frecuencias alélicas del gen PRNP ovino en la raza ovina Xalda de Asturias.

Alelo	N	Porcentaje
ARR	149	15,59
AHQ	11	1,15
ARH	33	3,45
ARQ	747	78,14
VRQ	16	1,67

En los animales analizados de la raza Xalda se han encontrado 11 genotipos diferentes para el gen PRNP ovino de los 15 posibles. En la Tabla 2 se muestra la distribución del color de la capa entre los diferentes genotipos del gen PRNP encontrados en la raza Xalda. El genotipo más frecuente en la raza es el ARQ/ARQ, presente en más de un 60% de animales, seguido del ARQ/ARR presente en casi un 25% de animales. Los demás están siempre por debajo de un 6%. La prueba del  $\chi^2$  no ha detectado ningún tipo de asociación significativa entre genotipo del gen PRNP y el color de la capa de los animales ( $p = 0,387$ ).

En otras especies, como el caballo, la capa negra recesiva está asociada al gen Agoutí (RIEDER et al., 2001; ROYO et al., 2005). La falta de asociación estadística encontrada entre genotipo PRNP y color de la capa en la raza Xalda, puede indicar dos cosas: a) que el carácter negro recesivo en la población ovina Xalda no esté asociado al gen Agoutí; b) que simplemente los loci PRNP y Agoutí no estén ligados. Por lo tanto, este primer análisis podría servir para rechazar al gen Agoutí como candidato posicional del carácter color de la capa. Futuras aproximaciones a este problema deberían contemplar la realización de análisis de ligamiento con marcadores moleculares en el cromosoma 13 ovino y descartar la existencia de otros genes candidatos para la capa negra segregando en nuestra población, para ser más exactos, descartar la presencia de alelos negros dominantes del locus Extension (VAGE et al, 1999; 2003).

En todo caso, a partir de estos resultados parece claro que en la población ovina gestionada por ACOXA se puede aplicar un programa de selección para

ciertos alelos del gen PRNP ovino, sin perjudicar al criterio de selección definido por ACOXA a favor del color de la capa.

Tabla 2. Frecuencias de distribución del color de la capa ente los diferentes genotipos del gen PRNP en la raza Xalda.

	Blanco (%)	Negro (%)	Total (%)	N
R1-ARR/ARR	0,8	1,5	2,3	11
R2-ARR/AHQ	0,4	0,0	0,4	2
R2-ARR/ARH	0,4	0,6	1,1	5
R2-ARR/ARQ	12,3	12,3	24,7	118
R3-AHQ/ARQ	0,0	0,2	0,2	1
R3-ARQ/AHQ	0,6	1,1	1,7	8
R3-ARQ/ARH	3,6	2,1	5,7	27
R3-ARQ/ARQ	32,0	28,7	60,7	290
R4-ARR/VRQ	0,0	0,4	0,4	2
R5-ARH/VRQ	0,0	0,2	0,2	1
R5-ARQ/VRQ	1,1	1,7	2,7	13
Total	51.3	48.7	100.0	478

Este proyecto ha sido cofinanciado por el Gobierno del Principado de Asturias, mediante el proyecto PC04-27, y ACOXA en el marco del programa de conservación de la raza ovina Xalda de Asturias.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ, I., et al 2004. J. Anim. Sci. 82: 2246-2252.
- ÁLVAREZ, I., et al. 2005. J. Anim. Sci. en prensa.
- PARSONS Y. M. et al. 1999. Aust. J. Agric. Res. 50: 1099-1103.
- RIEDER et al. 2001. Mamm. Gen. 12: 450-455.
- ROYO et al. 2005. EAAP Annual meeting, Uppsala, Sweden.
- SCHLÄPFER et al., 2000. J. Anim. Breed. Genet. 117: 211-216.
- VAGE et al. 1999. Mamm. Gen. 10: 39-43.
- VAGE et al. 2003. Pigment Cell Res. 16: 693-697.

## RAZAS AVÍCOLAS PORTUGUESAS: CONTRIBUTO PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UN PROGRAMA DE MEJORA ANIMAL

Costa, L.<sup>1</sup>, Leite, J. V.<sup>2</sup>, Lopes, J. C.<sup>1</sup>, Soares, M., L.<sup>1</sup>, Brito, N. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escola Superior Agrária de Ponte de Lima – Instituto Politécnico de Viana do Castelo – Mosteiro de Refoios – 4990-706 – Ponte de Lima – Portugal

<sup>2</sup> AMIBA – Associação dos Criadores de Bovinos de Raça Barrosã – Quinta do Pinho – Rua Franca, São Torcato – 4800-875 – Guimarães - Portugal

### INTRODUCCIÓN

La biodiversidad constituyó un tema de preocupación mundial, estimando se que en algún sitio del planeta una raza autóctona desaparece semanalmente. El patrimonio genético no puede ser livianamente dilapidado, sendo necesario un esfuerzo importante en lo sentido de catastrar, fijar y iniciar su racional mejora. La producción animal presenta, actualmente, relevantes preocupaciones de cariz ambiental y de sustentabilidad de recursos, tal como el consumidor presenta, hoy, elevadas preocupaciones relativas a temas como la seguridad alimentar. (FAO, 1995).

Las gallinas Pedrês Portuguesa, Preta Lusitânica y Amarela san razas avícolas autóctonos portuguesas, con solar en lo Noroeste de Portugal (Fig.1), criadas en sistemas productivos complementares y menos valorados relativamente a otras actividades rurales, en que la carne y huevos eran considerados subproductos de la exploración. Estas se caracterizan por unidades de reducida dimensión, baja productividad, mano-de obra familiar, especialmente de lo elemento femenino del agregado. La reducción demográfica observada en estas razas fue, aún, debida a la intensificación de la industria avícola, con el recurso a las razas exóticas (Leite *et al.*, 2003).

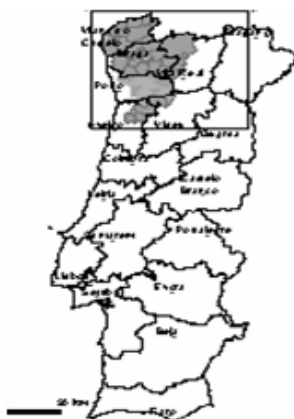


Fig. 1 – Solar de las Razas

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se procedió, en una primera fase, al levantamiento de los efectivos de las tres razas, en su solar, bien como a una encuesta a los ganaderos sobre aspectos productivos, económicos y sociales de las diferentes razas en análisis.

En una fase siguiente, después del muestreo y selección de los productores más relevantes, se efectuó el estudio zoométrico de los diferentes ejemplares para la obtención del padrón de la raza. Para la determinación de lo peso de los animales se recurrió a una balanza digital de precisión (Kerne) y para las restantes medidas se utilizó una cinta métrica, un compaso de corrediza y un transferidor.

Para su caracterización, se retiró de cada región anatómica, una pluma dado la heterogeneidad morfológica relativa a cada una de estas regiones.

Para la análisis estadística se recorrió a lo programa SPSS 11.0 para Windows.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lo sistema productivo de las razas Pedrês Portuguesa, Preta Lusitânica y Amarela es, nítidamente, de régimen extensivo (gallinero o aire libre), subsistiendo a base de alimentos tradicionales como mijo-grano, hierba, berzas y excedentes de las refecciones humanas. Son razas extremadamente rústicas, de fácil creación, bien adaptadas a diferentes condiciones ambientales. Estas características tornan relativamente fácil y poco onerosa su creación, reduciendo la generalizada escasez de recursos económicos que caracteriza la agricultura de subsistencia en las áreas rurales desfavorecidas del Noroeste de Portugal, típicamente de minifundio.

Estas razas avícolas se presentan como de aptitud mixta, produciendo una carne muy apreciada y de notable textura, cor e gusto, así como una interesante producción (en termos cualitativos) de huevos, bastante procurados pelos consumidores, especialmente los más sensibles a alimentos provenientes de la "Agricultura Ecológica".

En determinadas regiones, especialmente las más interiores y de montaña, la creación de gallinas de raza Pedrês y Preta tienen, aún, como finalidad la obtención de plumas. Con efecto, la recoja de plumas de determinadas regiones del cuerpo, especialmente las plumas negras, por su característico reflejo azul-metálico, tiene como finalidad la pesca de la trucha, ya que en la agua estas plumas y su reflejo engañan este tipo de pez.

Analizándose la distribución del efectivo, se puede constatar que las comarcas con mayor número de animales se localizan en la zona interior del solar (Cabeceiras de Basto y Vieira do Minho), al paso que en la zona litoral, se observa un reducido número de registros. Tal facto podrá ser atribuido al tipo de agricultura observado en cada región, mucho más tradicional en las zonas interiores, con grande tendencia para lo autoconsumo.

Morfológicamente, la principal distinción entre razas es la cor del plumaje, sendo la raza Pedrês caracterizada pelo su aspecto mosqueado en ton blanco

y ceniza, la raza Preta con un plumaje completamente negro con reflejo azul-metálico y la raza Amarela caracterizada pela su tonalidad castaña-naranja a amarillo-paja.

Cuanto a dados de conformación, tamaño y peso de los animales no se observaran diferencias significativas entre razas (Tabla 1), probablemente pela presencia de un sistema productivo y tipo de alimentación semejante, así como pela ausencia de cualquier medida de mejora genético de estas razas.

**Tabla 1** – Características zoométricas de las Razas Pedrês, Preta y Amarela

	♂ Raza Pedrês	♂ Raza Preta	♂ Raza Amarela	♀ Raza Pedrês	♀ Raza Preta	♀ Raza Amarela
<b>Peso (Kg)</b>	2,8 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	2,5 <sup>b</sup>	2,0 <sup>b</sup>	2,1 <sup>b</sup>
<b>Comp. (cm)</b>	62,9 <sup>a</sup>	63,3 <sup>a</sup>	65,5 <sup>a</sup>	56,0 <sup>b</sup>	52,8 <sup>b</sup>	53,5 <sup>b</sup>
<b>Alt. Tarso (cm)</b>	12,1 <sup>a</sup>	12,8 <sup>a</sup>	11,6 <sup>a</sup>	10,2 <sup>b</sup>	9,8 <sup>b</sup>	10,2 <sup>b</sup>
<b>Alt. Dorso (cm)</b>	32,9 <sup>a</sup>	31,3 <sup>a</sup>	34,3 <sup>a</sup>	28,7 <sup>b</sup>	27,6 <sup>b</sup>	10,2 <sup>b</sup>
<b>Per. Anillos (cm)</b>	5,4 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	4,7 <sup>b</sup>	4,4 <sup>b</sup>	4,2 <sup>b</sup>
<b>Comp. Crista (cm)</b>	7,6 <sup>a</sup>	9,2 <sup>a</sup>	10,8 <sup>a</sup>	4,9 <sup>b</sup>	4,6 <sup>b</sup>	5,8 <sup>b</sup>
<b>Alt. Barbillones (cm)</b>	4,5 <sup>a</sup>	4,9 <sup>a</sup>	6,2 <sup>a</sup>	2,8 <sup>b</sup>	1,9 <sup>b</sup>	3,1 <sup>b</sup>
<b>Comp. Pico (cm)</b>	3,9 <sup>a</sup>	3,9 <sup>a</sup>	4,1 <sup>a</sup>	3,6 <sup>b</sup>	3,4 <sup>b</sup>	3,4 <sup>b</sup>
<b>Envergadura (cm)</b>	86,9 <sup>a</sup>	87,6 <sup>a</sup>	85,3 <sup>a</sup>	79,0 <sup>b</sup>	76,6 <sup>b</sup>	71,3 <sup>b</sup>

a ≠ b, p<0,05

Se ha observado diferencias significativas (p<0,05) entre sexo, relativamente a medidas de peso y conformación, con la superioridad, en todas las observaciones de los majos relativamente a las hembras.

La implementación de los libros genealógicos de las razas Pedrês Portuguesa, Preta Lusitânica y Amarela es, pues, un desafío importante en lo sentido de salvaguardar la raza y defender los intereses de los productores, pues solo así se conseguirá la valorización, protección y conservación de estas razas avícolas portuguesas.

## REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS

FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations), 1995. World watch list for Domestic Animal Diversity. 2 Ed. FAO, Rome. Goldstein, D.B., Ruiz-Linares, A., Cavalli-Sforza, L.L., Feldman, M.W., 1995. An evaluation of genetic distance for use microsatellite loci. *Genetics* 139, 463-471.

Leite, J. V., Dantas, R., Dias, L., Ramallete, R. Programa de Melhoramento Animal. Amiba, 2003.

## CARACTERES DE PRODUCTIVIDAD TOTAL, PARA DOS INTENSIDADES REPRODUCTIVAS, EN OVEJAS CHURRAS.

El-Saied, U.M.<sup>1,2</sup>, de la Fuente<sup>1</sup>, L.F., Carriedo<sup>1</sup>, J.A. y San Primitivo<sup>1</sup>, F.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

<sup>2</sup>Animal Production Research Institute, Dokki, Giza, Egypt.

### INTRODUCCIÓN

Todos los caracteres que contemplan, tanto la permanencia de los animales en el rebaño, como la productividad a lo largo de su vida, presentan una indudable importancia económica. Mejores condiciones sanitarias y mayor capacidad productiva y reproductiva hacen que los animales permanecen más en el rebaño y por lo tanto menores serán los costes de reposición y mejores sus rendimientos económicos (Dekkers, 1993; Vukasinovic y col., 1997). La permanencia de los animales en un rebaño depende fundamentalmente de su capacidad productiva (reposición voluntaria) y de su estado sanitario (reposición involuntaria). Cuanto menor sea esta última, mayores posibilidades tendrá el ganadero para aplicar la primera y, en consecuencia, mayores beneficios.

Desde el punto de vista de producción láctea, una oveja permanece improductiva en dos momentos de su vida; el primero, desde el nacimiento al primer parto y el segundo, los días de secado entre un parto y otro. Estos dos periodos no productivos, contribuyen a reducir la productividad por día de vida.

Para el ganado vacuno lechero (Jairath y col., 1994) la producción de leche es la variable que mejor define su productividad económica, sin embargo, en el ganado ovino, adquiere gran importancia la producción de corderos. En la raza Churra, por una parte el cordero consume una importante cantidad de leche y, por otra, contribuye de forma importante a la rentabilidad económica de la explotación. En consecuencia, los estudios de rentabilidad en ganado ovino, deben contemplar fundamentalmente, la producción de leche y la de corderos.

No existen publicaciones que contemplen variables de productividad a lo largo de toda la vida, en el ganado ovino lechero. Los trabajos realizados en ganado vacuno, utilizan variables cuya utilización en estudios ovinos no resulta idónea. Resulta necesario iniciar este tipo de estudios, en el ganado ovino, comenzando por definir las variables más adecuadas e identificar los factores de variación más importantes.

El ganado vacuno y algunas razas ovinas presentan un manejo reproductivo muy estandarizado a un parto anual. Por el contrario, entre los rebaños de ganado de la raza Churra, nos encontramos con múltiples sistemas de manejo reproductivo, desde el más clásico de un parto al año, hasta el más intensificado, tendente a tres partos cada dos años, pudiendo variar de forma importante el número de parideras a lo largo del año.

Nuestro objetivo en este trabajo, es estudiar las diferencias existentes entre dos tipos de rebaños con manejo reproductivo extremo, por un lado rebaños con tendencia a un parto anual y por otro rebaños con tendencia a 3 partos cada 2 años.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se recogieron de los archivos de la Asociación de Ganaderos ANCHE. La tabla 1 incluye un resumen de los datos analizados. Todos los rebaños están integrados en el programa de selección de la raza y todas las ovejas son hijas de machos utilizados en la inseminación artificial, por lo que todos los rebaños están genéticamente bien conectados.

Tabla 1. Descripción de la base de datos.

	Manejo reproductivo	
	3 partos/2 años	1 parto / año
Ovejas	553	573
Lactaciones	3168	2198
Sementales	65	58
Hijas / semental (rango)	1 a 55	1 a 56
Madres	464	448
Madres con datos	39	72
Rebaños	4	5
Partos / oveja (rango)	1 a 14	1 a 10

La base de datos se constituyó con animales nacidos, y criados en el mismo rebaño, entre 1988 y 1994 (todas con al menos 10 años de oportunidad de vida) y con información de todas sus lactaciones. Todos los animales incluidos tuvieron el primer parto entre los 12 y los 36 meses de edad y su intervalo entre partos no fue inferior a 180 días ni superior a 599. Se desconoce la causa concreta de baja de cada animal.

Como variables se han utilizado dos puramente productivas: leche total (LT) y número de corderos (NC). Otras relacionadas con la intensificación reproductiva: Edad al primer parto (EPP), número de partos (NP) e intervalo entre partos (IP). Variables relacionadas con la vida del animal: Vida total desde el nacimiento a la baja (VT), vida productiva, desde el primer parto al secado de la última lactación (VP) y vida útil, suma de todos los días que la oveja estuvo produciendo leche (VU). Las variables restantes contemplan, por un lado, la producción de leche por día de vida total (L/VT), de vida productiva (L/VP) o de vida útil (L/VU) y, por otro, los aspectos puramente económicos; Ingresos brutos de leche y corderos (IB) y los mismos ingresos por día de vida total (IB/VT), por día de vida productiva (IB/VP) y, por día de vida útil (IB/VU).

Para las variables económicas, se ha calculado el precio de la leche vendida (excluyendo la mamada por el cordero de la leche total, LT) en función de su extracto quesero (suma de grasa y proteína) y a precios medios del año 2004. Para estimar los ingresos por la venta de lechazos, se ha multiplicado el número de lechazos por el precio medio en el mismo año.

Los parámetros genéticos se estimaron, con un modelo animal multicarácter mediante el REML utilizando el programa VCE 4.0 (Groeneveld y García Cortés, 1998), considerando como factores fijos la intensificación reproductiva (3 partos/2 años y 1parto/año), el rebaño dentro del sistema y el año de nacimiento y el animal como único factor aleatorio. Los parámetros fenotípicos se estimaron mediante el procedimiento SAS (SAS, 1998).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 2 incluye las medias con su desviación estándar y los coeficientes de variación, obtenidas con todos los datos y para cada variable. Además, se incluyen las medias mínimo cuadráticas para cada uno de los dos grupos de intensificación reproductiva.

Tabla 2. Medias genotípicas, desviación estándar (DS), coeficientes de variación fenotípicos (CV%) y medias mínimo cuadráticas para cada uno de los dos grupos de manejo reproductivo.

Variable <sup>1</sup>	Media	DS	CV%	Medias mínimo cuadráticas <sup>2</sup>	
				3 partos/2 años	1 parto / año
VT, d	2160	749	35	2371 <sup>a</sup>	2112 <sup>b</sup>
VP, d	1274	740	58	1335 <sup>a</sup>	1157 <sup>b</sup>
VU, d	687	391	57	731 <sup>a</sup>	589 <sup>b</sup>
LT, l	698	481	69	681 <sup>a</sup>	617 <sup>a</sup>
L/VT, l	0.2979	0.1373	46	0.2704 <sup>a</sup>	0.2719 <sup>a</sup>
L/VP, l	0.5607	0.2089	37	0.5342 <sup>a</sup>	0.5439 <sup>a</sup>
L/VU, l	0.9766	0.2820	29	0.9020 <sup>a</sup>	0.9976 <sup>b</sup>
EPP, d	579	157	27	649 <sup>a</sup>	584 <sup>b</sup>
NP	4.77	2.63	55	5.2 <sup>a</sup>	4.1 <sup>b</sup>
IP, d	313	51	16	295 <sup>a</sup>	333 <sup>b</sup>
NC	6.78	4.15	61	7.3 <sup>a</sup>	5.7 <sup>b</sup>
IB·€	786	506	64	799 <sup>a</sup>	679 <sup>b</sup>
IB/VT, €	0.34	0.14	40	0.32 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>
IB/VP, €	0.64	0.20	31	0.63 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
IB/VU, €	1.12	0.23	21	1.07 <sup>a</sup>	1.12 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Número de registros analizados = 596 para todas las variables excepto el intervalo entre partos que tuvo 567 registros.

<sup>2</sup>Medias con letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Los resultados incluidos en la tabla 2, permiten observar mayores valores en el manejo reproductivo, para las tres variables de vida. La varianza explicada por el factor intensificación reproductiva fluctúa entre 1,1 y 4,5, mientras que la explicada por el factor rebaño, dentro del sistema, resulta mayor (entre 8,6 y 12,6). Difícilmente pueden atribuirse las diferencias al manejo reproductivo. Podrían estar implicados otros factores relacionados con el momento elegido por el ganadero para el desvieje.



No se observan diferencias significativas entre los dos grupos de rebaños, respecto a la producción de leche durante toda la vida del animal (LT), aunque producen mayor cantidad las mas intensificadas. No obstante, cuando se analiza la producción por unidad de tiempo, resultan menos productivas las ovejas con 3 partos en 2 años.

Cuanto mayor intensificación reproductiva presentan los rebaños, mayor número de corderos producen, mayor es el número de partos y menor el intervalo entre partos. Resulta sorprendente que la edad al primer parto sea mayor en los rebaños con mayor intensificación reproductiva, aspecto difícil de interpretar, pues depende más del manejo del rebaño al explicar mayor porcentaje de varianza (8,5 frente al 5,3).

Económicamente, los rebaños con manejo reproductivo más intensivo tienen mayores ingresos, como consecuencia de un mayor número de corderos producidos. Sin embargo, no existen diferencias significativas en cuanto a los ingresos por días de vida total y de vida productiva y existen diferencias significativas, a favor de los menos intensificados, en cuanto a la producción por días de vida útil.

En la Tabla 3 se presentan las heredabilidades y las correlaciones fenotípicas y genéticas entre las seis variables que consideramos más interesantes.

Tabla 3. Heredabilidades  $\pm$ ES (en la diagonal), correlaciones genéticas (encima de la diagonal) y fenotípicas (debajo de la diagonal).

	3 partos/2 años						1 parto / año					
	VT	VP	VU	LT	L/VU	IB	VT	VP	VU	LT	L/VU	IB
VT	<b>0.02</b> (0.01)	0.55	0.53	0.15	-0.44	0.31	<b>0.23</b> (0.07)	0.97	0.98	0.97	0.75	0.98
VP	0.90	<b>0.05</b> (0.01)	0.94	0.78	0.28	0.88	0.91	<b>0.30</b> (0.07)	0.99	0.97	0.76	0.98
VU	0.85	0.97	<b>0.05</b> (0.01)	0.84	0.31	0.85	0.90	0.98	<b>0.37</b> (0.08)	0.97	0.76	0.98
LT	0.74	0.85	0.90	<b>0.09</b> (0.05)	0.77	0.96	0.84	0.90	0.92	<b>0.53</b> (0.08)	0.88	0.99
L/VU	0.17	0.21	0.25	0.58	<b>0.22</b> (0.07)	0.67	0.36	0.36	0.36	0.63	<b>0.41</b> (0.09)	0.85
IB	0.80	0.91	0.95	0.97	0.46	<b>0.07</b> (0.04)	0.87	0.94	0.95	0.98	0.55	<b>0.48</b> (0.08)

La tabla 3 muestra claramente que las heredabilidades estimadas fueron sensiblemente mas bajas en el sistema de 3 partos en 2 años. También las correlaciones genéticas y las fenotípicas resultaron mas bajas. Posiblemente estas enormes diferencias, especialmente en la heredabilidad, pueden ser debidas a que el sistema de intensificación reproductiva atribuido a cada rebaño, no es el mismo para todos los animales que lo constituyen. El análisis detenido de los resultados nos conduce a confirmar la sospecha de que, en los rebaños que tienden a llevar a sus animales hacia la producción de tres partos en dos años, existen otros factores de variación importantes. La menor fertilidad de las ovejas cuando están en plena producción láctea (efecto más acusado cuanto mayor sea la producción de la oveja) y el manejo particular de cada ganadero, pueden actuar como efecto sistemático, de forma que las ovejas más productivas se aproximarán más a un parto al año y las menos productivas a tres partos cada dos años. De esta forma, el factor intensificación reproductiva no es fijo para cada rebaño sino variable prácticamente para cada oveja y dependiente del número de cubriciones anuales que realiza el ganadero. En estas condiciones, resulta complicado diseñar un modelo que permita tener en cuenta estas particularidades de manejo.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Dekkers, J. C. M. 1993. J Dairy Sci. 76:1433-1443.  
 Groeneveld, E y L. A. García Cortés. 1998. WCGALP. Vol 27:455-456.  
 Jairath, L. K., J. F. Hayes y R. I. Cue. 1994. J Dairy Sci. 77:303-312.  
 SAS, 1998. User's Guide, Release 6.12. SAS Istitute Inc., Cary, NC.  
 Vukasinovic, N. J. Moll, y N. Kunzi. 1997. J Dairy Sci. 80:2572-2579.

## SELECCIÓN DIVERGENTE POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO. ESTIMACIÓN DE LA RESPUESTA CON UNA POBLACIÓN CONTROL CRIOCONSERVADA.

Mocé M.L.<sup>1</sup>, Santacreu M.A., Climent A., Blasco A.

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia,  
P.O. Box 22012. 46071 Valencia. Spain

### INTRODUCCIÓN

La selección para aumentar la capacidad uterina se ha propuesto como una alternativa para aumentar la supervivencia prenatal e indirectamente el tamaño de camada. La selección por capacidad uterina ha tenido éxito en ratón (Kirby y Nielsen, 1993) y en conejo (Blasco *et al.*, 2000). La respuesta estimada con tendencias genéticas en dos líneas seleccionadas de forma divergente para la capacidad uterina por Blasco *et al.* (2000) ha sido simétrica. El objetivo de este trabajo es estimar la respuesta a la selección por capacidad uterina en estas dos líneas divergentes y evaluar si la respuesta ha sido asimétrica usando una población control crioconservada.

### MATERIAL Y MÉTODOS

**Animales.** Los animales pertenecen a la generación 13 de un experimento selección divergente por capacidad uterina y a una población control crioconservada. La selección divergente se realizó durante 10 generaciones y posteriormente se relajó. La capacidad uterina se estimó como el tamaño de camada en hembras unilateralmente ovariectomizadas, con un solo ovario y cuerno uterino funcional (hembras ULO). Para la creación de la población control, se vitrificaron embriones de la generación base y se conservaron en nitrógeno líquido hasta su transferencia. Se han recogido datos de 461 partos que corresponden a 134 hembras ULO: 62 hembras de la línea seleccionada para aumentar la capacidad uterina (CU+), 55 hembras de la línea seleccionada para disminuir la capacidad uterina (CU-) y 17 hembras de la población control (C). A todas las hembras se les practicó una ovariectomía unilateral a las 14-16 semanas de vida.

**Caracteres.** TO: tasa de ovulación estimada como el número de cuerpos lúteos. El: número de embriones implantados, estimado como el número de puntos de implantación. CU: capacidad uterina estimada como tamaño de camada en las hembras ULO. Todos los caracteres fueron medidos en la segunda gestación, excepto la CU, que se midió en los cuatro primeros partos. Para estimar la tasa de ovulación y el número de embriones implantados se realizó una laparoscopia a los 12 días de la segunda gestación. Además, se calculó la supervivencia prenatal ( $SP=CU/TO$ ).

**Análisis estadístico.** El análisis genético se realizó con métodos bayesianos. Para el análisis de CU se ajustó un modelo con los siguientes efectos: línea (CU+, CU- y C), año-estación, estado de lactación de la coneja (5 niveles: nulípara, primípara

---

<sup>1</sup> Dirección actual: Departamento de Producción Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Edificio Seminario. 46113 Moncada, Valencia, España. e-mail: mmoce@uch.ceu.es

lactante o lactante durante la gestación y múltipara lactante o no lactante) y el efecto de la hembra. Para analizar los datos del segundo parto se ajustó un modelo con los siguientes efectos: línea, año-estación y estado de lactación (primípara lactante o no lactante). Todas las distribuciones a priori fueron planas acotadas, salvo el efecto de la hembra que se asumió normal con media nula y varianza  $I\sigma_p^2$ . Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron usando muestreo de Gibbs. Después de varios análisis exploratorios se usó una cadena de 120.000 iteraciones, con un periodo de quemado de 20.000 iteraciones. Se tomó una muestra cada 10 iteraciones. La convergencia se comprobó usando el criterio de Geweke.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre ambas líneas para los caracteres estudiados. Como las distribuciones son simétricas sólo se muestra en la tabla la media de la distribución. El test de Geweke no detectó falta de convergencia y el error de Monte Carlo es pequeño.

Una hipótesis del modelo de capacidad uterina propuesto por Blasco *et al.* (1994) en conejo era que la respuesta obtenida en hembras ULO (con un cuerno uterino funcional) sería duplicada en hembras intactas. Las diferencias estimadas entre las líneas CU+ y CU-, para todos los caracteres estudiados en las hembras ULO de este experimento, son la mitad de las diferencias estimadas en hembras intactas de estas mismas líneas por Santacreu *et al.* (2000), de acuerdo con la hipótesis formulada. Sin embargo, en el único experimento de selección llevado a cabo en ratón la respuesta en capacidad uterina fue la misma que la respuesta correlacionada en tamaño de camada (Kirby y Nielsen, 1993).

La selección por capacidad uterina ha dado lugar a una diferencia de un gazapo entre las líneas divergentes CU+ y CU-, pero la respuesta estimada es asimétrica. La línea CU+ y la línea Control no presentan diferencias relevantes mientras que la línea CU- presenta un gazapo menos que la línea Control, con una probabilidad del 98% de que la diferencia entre ambas líneas sea mayor que cero. Estos resultados están de acuerdo con la respuesta estimada para el tamaño de camada a partir de las mismas líneas pero en hembras intactas, con ambos ovarios y cuernos uterinos funcionales (Santacreu *et al.*, 2000). Sin embargo, Blasco *et al.* (2000) obtienen una respuesta simétrica en base a las tendencias genéticas estimadas. La estimación de las tendencias genéticas se realizó con los datos de las diez generaciones de selección y los resultados son más precisos que los obtenidos utilizando la población control crioconservada. Argente *et al.* (2003) encuentra evidencias de un QTL con un efecto moderado en estas líneas divergentes que podría explicar esta asimetría y la gran respuesta estimada por Blasco *et al.* (2000) en las dos primeras generaciones.

La selección por capacidad uterina no parece haber modificado la tasa de ovulación y las tres líneas presentan una tasa de ovulación similar. Por otra parte, las líneas CU+ y CU- difieren en supervivencia prenatal de acuerdo con el criterio de selección utilizado. El objetivo de la selección por capacidad uterina es aumentar el tamaño de camada mejorando la supervivencia prenatal. La línea CU- presenta un embrión menos en el momento de la implantación que la línea C y la probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero es de 0.84. La respuesta correlacionada es asimétrica de acuerdo con lo observado para la capacidad uterina. En ratón, Clutter

*et al.* (1994) encuentran una pequeña respuesta correlacionada tanto en tasa de ovulación como en supervivencia prenatal en una línea seleccionada por capacidad uterina durante 21 generaciones.

La respuesta en la línea seleccionada por baja capacidad uterina parece deberse a una respuesta correlacionada en la supervivencia prenatal. Actualmente se está llevando a cabo un experimento F2 para evaluar la posibilidad de un gen mayor que explique estas diferencias en supervivencia prenatal entre las dos líneas divergentes.

**Tabla 1.** Características de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta capacidad uterina (CU+), baja capacidad uterina (CU-) y control (C) para los caracteres: capacidad uterina (CU), tasa de ovulación (TO), nº de embriones implantados (EI) y supervivencia prenatal (SP= CU/TO).

		Media	IMD <sub>95%</sub>	k	P>0	MCee	Z
CU	(CU+)- (C)	-0.08	-1.10, 0.92	-0.92	0.44	0.0055	-0.26
	(C)- (CU-)	1.08	0.05, 2.12	0.22	0.98	0.0055	0.29
	(CU+)- (CU-)	1.01	0.38, 1.65	0.47	0.99	0.0033	0.05
TO	(CU+)- (C)	-0.01	-1.50, 1.44	-1.30	0.50	0.0081	0.18
	(C)- (CU-)	0.16	-1.34, 1.62	-1.10	0.58	0.0079	-0.40
	(CU+)- (CU-)	0.16	-0.86, 1.06	-0.67	0.64	0.0047	-0.35
EI	(CU+)- (C)	-0.60	-2.65, 1.53	-2.30	0.27	0.0093	-1.56
	(C)- (CU-)	1.06	-1.14, 3.07	-0.77	0.84	0.0094	1.22
	(CU+)- (CU-)	0.46	-0.78, 1.66	-0.59	0.78	0.0057	-0.53
SP	(CU+)- (C)	0.02	-0.13, 0.17	-0.10	0.59	0.0007	-0.83
	(C)- (CU-)	0.06	-0.09, 0.21	-0.06	0.79	0.0008	0.25
	(CU+)- (CU-)	0.08	-0.01, 0.17	0.01	0.96	0.0004	-1.06

IMD: Intervalo de máxima densidad al 95%; k: límite del intervalo [k, 8) conteniendo una probabilidad del 95%; P>0: probabilidad de que la diferencia sea mayor que cero; MCee: error estándar de Monte Carlo; Z: Z-score del test de Geweke.

## REFERENCIAS

- Argente, M. J., Blasco, A., Ortega, J. A., Haley, C. S., Visscher, P. M. 2003. *Genetics*, 163: 1061-1068.
- Blasco, A., Argente, M. J., Haley, C. S., Santacreu, M. A. 1994. *J. Anim. Sci.* 72: 3066-3072.
- Blasco, A., Ortega, J. A., Santacreu, M. A. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Valencia. Vol A: 347-352.
- Clutter, A. C., Kochera Kirby, Y. L., Nielsen, M. K. 1994. *J. Anim. Sci.* 72: 577-583.
- Kirby, Y. L., Nielsen M. K. 1993. *J. Anim. Sci.* 71: 571-578.
- Santacreu, M. A., Argente, M. J., Mocé, M. L., Blasco, A. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Valencia. Vol A : 491-496.

## SELECCIÓN POR TASA DE OVULACIÓN EN CONEJO. RESULTADOS PRELIMINARES.

**Ibañez N., Martínez M., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A.**

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia,

P.O. Box 22012. 46071 Valencia. Spain

### INTRODUCCIÓN

La selección por tasa de ovulación ha sido propuesta como una forma indirecta de aumentar el tamaño de camada en cerdos y en ratón. La selección por tasa de ovulación, aunque ha aumentado la tasa de ovulación, no ha tenido una respuesta correlacionada en el tamaño de camada. Sin embargo, estos resultados están basados en pocos experimentos, dos en ratón (LAND Y FALCONER, 1969; BRADFORD, 1969) y dos en cerdo (CUNNINGHAM *et al.*, 1979; BIDANEL *et al.*, 1998) y no hay ningún experimento realizado en conejo. Además varios experimentos en cerdos han tenido éxito incrementando el tamaño de camada a través de una selección indirecta por sus componentes (LAMBERSON *et al.*, 1991; JOHNSON *et al.*, 1999; RUIZ-FLORES y JOHNSON, 2001). Estos experimentos muestran que cuando la tasa de ovulación es suficientemente alta, la selección por tamaño de camada aumenta la capacidad uterina.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### Animales

Los animales fueron criados en la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia. Estos animales derivan de una línea (V) sintética, seleccionada durante 12 generaciones por tamaño de camada, posteriormente 10 generaciones por capacidad uterina y finalmente se relajó la selección durante 5 generaciones. La línea de tasa de ovulación se fundó con los animales pertenecientes a la generación 16 de la línea seleccionada para aumentar la capacidad uterina. La selección se basó en el valor fenotípico de la tasa de ovulación, con una presión media de selección en hembras del 30%. La tasa de ovulación se midió mediante laparoscopia en la segunda gestación, 12 días después de la monta (la técnica quirúrgica esta descrita con detalle en ARGENTE *et al.*, 1997). Tres ciclos de selección han sido analizados. Cada generación se compuso de 80 hembras y 20 machos en promedio.

#### Caracteres

Se analizaron los siguientes caracteres: TO: tasa de ovulación estimada como el número de cuerpos lúteos. EI: número de embriones implantados, estimado como el número de puntos de implantación. TC: tamaño de camada (número total de gazapos nacidos). Todos los caracteres fueron medidos en el segundo parto, excepto el TC, que se midió en cuatro partos.

## Análisis estadístico

El análisis genético se realizó con métodos bayesianos. Se ajustó un modelo jerárquico multivariante donde se incluyeron todos los caracteres. Los efectos ambientales considerados en el análisis fueron año-estación (12 niveles) y estado de lactación de la coneja (3 niveles: nulípara, y múltipara lactante o no lactante durante la gestación). Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros desconocidos se estimaron usando Gibbs sampling con aumento de datos. Después de varios análisis exploratorios se usaron tres cadenas de 1.000.000 iteraciones cada una, con un periodo de quemado de 100.000 iteraciones. Se tomó una muestra cada 100 iteraciones, para evitar la alta correlación entre muestras consecutivas. La convergencia se comprobó para cada cadena separadamente usando el criterio de Geweke. Detalles del procedimiento se pueden encontrar en SORENSEN y GIANOLA (2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las correlaciones fenotípicas entre los caracteres fueron 0.49 para TO y EI, 0.14 para TO y TC y 0.48 para EI y TC.

Los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las heredabilidades y las correlaciones genéticas se presentan en las tablas 1 y 2. Las distribuciones marginales posteriores tuvieron un error de Monte Carlo muy pequeño. El test de Geweke no detectó falta de convergencia. Las distribuciones posteriores para las correlaciones genéticas fueron altamente asimétricas.

La heredabilidad de la TO fue mayor que la heredabilidad estimada en conejos por BLASCO *et al.* (1993b) (0.21), BOLET *et al.* (1994) (0.24) y ARGENTE *et al.* (2000) (0.20). La heredabilidad para el TC fue baja, de acuerdo con los resultados publicados en conejo (BLASCO *et al.*, 1993a; ARGENTE *et al.*, 2000; GARCIA y BASELGA, 2002). El carácter EI presenta una heredabilidad intermedia, como en BOLET *et al.* (1994).

La correlación genética entre TO y TC fue moderadamente alta (tabla 2). Esta correlación fue mayor que la estima obtenida por BLASCO *et al.* (1993b) ( $0.36 \pm 0.31$ ). Sin embargo, es difícil comparar estos resultados dada la baja precisión de ambas estimas. En cerdos y ratones las estimas publicadas de esta correlación son muy diversas (BLASCO *et al.*, 1993a; ROTHSCCHILD y BIDANEL, 1998).

**Tabla 1. Características de las distribuciones marginales posteriores de las heredabilidades de la tasa de ovulación (TO), nº de embriones implantados (EI) y tamaño de camada (TC).**

	Mediana	Media	de	IMD(95%)	k	MCee	Z
TO	0.44	0.44	0.08	0.28, 0.61	0.30	0.0005	-0.12
EI	0.32	0.32	0.08	0.16, 0.48	0.19	0.0004	0.44
TC	0.12	0.11	0.05	0.04, 0.22	0.05	0.0003	1.58

de: desviación estándar, IMD: Intervalo de máxima densidad al 95%, k: límite del intervalo [k,1] conteniendo una probabilidad del 95%. MCee: error estándar de Monte Carlo, Z: Z-score del test de Geweke.

### Tendencias genéticas

La respuesta en las tres primeras generaciones para la tasa de ovulación fue muy alta, 1.8 óvulos. La respuesta correlacionada para embriones implantados fue alta, alrededor de 1.4 embriones y la respuesta para TC fue de 0.5 gazapos. Nuestros resultados no están de acuerdo con experimentos previos de selección por tasa de

ovulación en ratones (LAND Y FALCONER, 1969; BRADFORD, 1969) y cerdo (CUNNINGHAM *et al.*, 1979; BIDANEL *et al.*, 1998) en donde no hubo respuesta para TC. GARCÍA y BASELGA (2002), en un experimento de selección por tamaño de camada en conejo encuentran una respuesta correlacionada en tasa de ovulación, lo que apoyaría nuestros resultados. Dada la alta heredabilidad de TO y la correlación genética entre TO y TC encontradas, la selección por tasa de ovulación podría incrementar el TC con una mayor eficiencia que la selección directa por TC.

**Table 2. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las correlaciones genéticas entre tasa de ovulación (TO), n° de embriones implantados (EI) y tamaño de camada (TC).**

	Mediana	Media	de	IMD(%)	k	MCee	Z
TO,TC	0.57	0.56	0.20	0.19, 0.95	0.23	0.0011	-1.04
TO,EI	0.69	0.68	0.13	0.42, 0.93	0.45	0.0007	1.46
EI,TC	0.94	0.92	0.09	0.73, 1.00	0.76	0.0006	0.84

de: desviación estándar, IMD: Intervalo de máxima densidad al 95%, k: límite del intervalo [k,1] conteniendo una probabilidad del 90%. MCee: error estándar de Monte Carlo, Z: Z-score del test de Geweke.

## REFERENCIAS

- ARGENTE M.J., SANTACREU M.A., CLIMENT A., BLASCO A., BOLET G. 1997. *J. Anim. Sci.* **75**: 2350 - 2354.
- ARGENTE M.J., SANTACREU M.A., CLIMENT A., BLASCO A. 2000. *7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*. Valencia-España. Vol B: 333-338.
- BIDANEL J.P., TRIPART C., BLASCO A., GOGUE. 1998. *49<sup>th</sup> Annual Meeting. EAAP*. Varsovia.
- BLASCO A., BIDANEL J.P., BOLET G., HALEY C.S., SANTACREU M.A. 1993a. *Livest. Prod. Sci.* **37**: 1-21.
- BLASCO A., SANTACREU M.A., THOMPSON R., HALEY C.S., 1993b. *Livest. Prod. Sci.* **34**: 163-174.
- BLASCO A., SORENSEN D., BIDANEL. 1998. *Genetics.* **149**: 301-306.
- BOLET G., SANTACREU M.A., ARGENTE M.J., CLIMENT A., BLASCO A. 1994. *5th World Cong. Genet. Appl. Lives. Prod. Guelph, Canada*. Vol. **19**: 261-264.
- BRADFORD G.E, 1969. *Genetics.* **61**: 905-921.
- CUNNINGHAM, P. J., ENGLAND, M. E, YOUNG, L. D., ZIMMERMAN, D.R. 1979. *J. Anim Sci.* **48**(3): 509-516.
- GARCIA M.L, BASELGA M. 2002. *Livest. Prod. Sci.* **74**: 45-53.
- JOHNSON R.K., NIELSEN M.K, KITTOK R.J. 1999. *J. Anim. Sci.* **77**: 541-557.
- LAMBERSON W.R., ZIMMERMAN D.R., ELDRIDGE F.E., KOPF J.D. 1991. *J. Anim. Sci.* **69**: 3129-3143.
- LAND R.B., FALCONER D.S. 1969. *Genet. Res.* **13**: 25-45.
- ROTHSCHILD M.F., BIDANEL J.P. 1998. *Chapter 11. Biology and Genetics Reproduction. C.A.B. International.*
- RUIZ-FLORES A., JOHNSON R.K. 2001. *J. Anim. Sci.* **79**: 2286-2297.
- SORENSEN D., GIANOLA D. 2002. *Likelihood, Bayesian and MCMC methods in quantitative genetics*. New York: Springer.

## **ANÁLISIS TÉCNICO-ECONÓMICO DE GANADERÍAS DE RAZAS LATXA Y MANCHEGA COMO PASO PREVIO AL CÁLCULO DE PESOS ECONÓMICOS.**

M. Ramón<sup>1</sup>, A. Legarra<sup>2</sup>, M.D. Pérez-Guzmán<sup>1</sup>, E. Ugarte<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CERSYRA. Avda. del vino s/n, Valdepeñas, Ciudad Real.

<sup>2</sup>NEIKER. Apdo 46, Vitoria-Gasteiz 01080.

### **INTRODUCCIÓN**

El objetivo de cualquier empresa y, por tanto, de una explotación de ovino lechero, no es otro que lograr la mayor rentabilidad posible. La toma de decisiones dentro del programa de selección ha de tener en cuenta la situación económica del momento y del lugar, así como posibles situaciones futuras de mercado. Para ello debemos seleccionar aquellos animales que vayan a conseguir que la rentabilidad de nuestra empresa sea máxima en la generación siguiente.

El primer paso para establecer el objetivo de selección sería definir una **función de beneficio** representativa de lo que ocurre en la empresa, describiendo los cambios en el beneficio económico en función de una serie de parámetros biológicos y económicos (Gibson, 1992). Es decir, debe ser formulada atendiendo al entorno económico y productivo donde se producirá el cambio genético. Sin embargo, al no existir unas condiciones de manejo estándar, cada ganadería tiene su propio margen de acción a la hora de tomar sus propias decisiones. Además, los precios de mercado pueden variar entre ganaderías, existiendo en ocasiones diferencias notables.

El presente trabajo presenta los datos de partida para el cálculo de pesos económicos en las razas Latxa y Manchega y discute la problemática de su recogida y la variabilidad existente en los mismos. Los resultados de pesos económicos se presentan en Legarra et al. (2005).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para el estudio se han empleado los datos técnico-económicos de gestión de cuatro ganaderías de raza Manchega pertenecientes a Castilla-La Mancha y de 19 ganaderías de raza Latxa del País Vasco. Los datos se recogieron en las explotaciones de Manchega mediante encuestas individuales al ganadero, realizadas por la asociación de criadores (AGRAMA). En el caso de la raza Latxa se utilizaron datos recogidos por los técnicos de gestión de Lorra, Abelur, Lurgintza y Sergal, que se utilizan para la asesoría técnico-económica de las explotaciones.

Los costes de producción de leche, corderos, y recría son costes variables que se calcularon como la suma de los costes de alimentación y mano de obra asociados.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La tabla 1 presentan los datos de gestión técnico-económica, con las cuatro explotaciones de la raza Manchega, y los cuartiles primero, segundo (o mediana) y tercero en el caso de la raza Latxa. Se presentan los cuartiles como una medida de la variabilidad de los datos.

El número de hembras en las explotaciones es mucho mayor en la raza Manchega, dado que se trata de explotaciones más grandes, con mano de obra asalariada y que se dedican también a la agricultura, mientras que en la raza Latxa se trata principalmente de empresas unifamiliares. Se puede observar que la producción de leche por campaña y hembra es superior en la raza Manchega que en la raza Latxa, ya que en aquélla se sigue un sistema de paridera continua. A pesar de la diferencia en los sistemas de producción, datos técnicos como la fertilidad, la prolificidad y la vida productiva son similares en las dos razas.



Tabla 1. Datos técnico-económicos de ganaderías de raza Latxa y Manchega

	Latxa. Año 2002			Manchega. Año 2003			
	1er cuartil	Mediana	3er cuartil	A	B	C	D
Total hembras	339	422	506	2007	447	1020	1448
Fertilidad	0,80	0,85	0,91	0,92	0,86	0,81	0,89
Prolificidad	1,19	1,24	1,37	1,22	1,2	1,04	1,16
Leche vendida/hembra parida	83	98	119	80,43	164,62	116,27	108,29
Vida Productiva	4,84	5,33	5,50	4,99	4,76	5,45	6,96
Costes Fijos	13271	17075	21939	22345	17306	20128	23273
Mano de obra (euros)	16424	18950	31584	56494	20600	25164	46634
Mano de obra (euros/hembra)	40,85	49,35	65,32	28	48	25	32
Costes Fijos/total hembras	32,82	38,83	50,57	11,13	47,66	19,73	16,07
Costes Fijos+MO/total hembras	75,38	97,32	111,24	39,28	95,99	44,40	48,28
Alimentación	18014	22611	29973	123128	40133	75282	137993
Alimentación/hembra	47,28	51,52	59	61	90	74	95
Precio de la leche	0,96	1,37	1,85	1,02	0,93	0,95	0,96
Precio de corderos	28,55	34,9	39,50	49,81	51,04	51,09	51,04
Beneficio SIN subvención	9355	17147	35862	31124	1371	7183	2476
Beneficio sin subvención, por oveja	21,41	36,67	81,62	15,50	3,07	7,04	1,71
Beneficio CON subvención	15024	24940	50287	72632	13549	27668	38741
Coste Leche (€/l)	0,098	0,245	0,401	0,24	0,25	0,223	0,306
Coste Cordero (€/cordero)	-	-	-	24,62	27,12	24,02	26,83
Coste Cordero simple	10,57	12,41	13,49	-	-	-	-
Coste Cordero doble	5,29	6,20	6,74	-	-	-	-
Coste de recría (€/cordera de reposición)	48,98	52,00	60,50	54,61	75,35	59,41	72,58

### Difícil cálculo de costes

Tradicionalmente, los costes asociados a una actividad empresarial se han dividido en costes fijos y costes variables (aunque la teoría de pesos considera que, si una empresa se encuentra en el óptimo de manejo, a largo plazo todos los costes son variables). Se observan diferencias (Tabla 1) en el apartado de **costes fijos**; si bien el total es mayor en ganaderías de raza Manchega, al considerarlos por animal se observan valores más altos en la raza Latxa. Esto se debe, entre otras cosas, a la inversión en queserías y establos en una zona de climatología más difícil.

Los costes variables más importantes de una explotación, y quizás los más difíciles de cuantificar, son los **costes de alimentación**. La mayoría de las ganaderías únicamente recogen datos de gastos en alimentación de forma general; no diferencian entre los distintos tipos de alimentos ni entre las raciones aportadas a diferentes tipos de animales. Además, es habitual la alimentación a base de praderas, especialmente en la raza Latxa, y cuantificar el coste de la misma es bastante complicado (sólo se calculan los gastos generados por esa pradera, como abonados, laboreos, etc.). Observando la Tabla 1, existen diferencias claras en los costes de alimentación por hembra tanto entre las dos razas, como dentro de cada raza. Otro punto crítico a la hora de realizar el estudio económico es el **coste asociado a la mano de obra**, siendo más problemático aún, repartir dicho coste entre las diferentes actividades. El hecho de que la explotación sea "industrial" o de tipo familiar implica notables diferencias, pues en estas últimas no existe un salario fijado, por lo que se le puede asignar un salario arbitrario. En Castilla – La Mancha es habitual que las explotaciones desarrollen actividades agrícolas y ganaderas. Sin

embargo, para el cálculo de pesos económicos se deben separar ambas actividades y considerar únicamente dicha actividad lechera. También es posible que el propio ganadero, además de productor de leche sea también productor de queso, situación que se observa en el País Vasco. En este último caso, el precio de la leche se revaloriza, pero a su vez aumentan las necesidades de mano de obra, debido a la actividad extra de producción de queso. La Tabla 1 muestra las diferencias entre razas para el coste de mano de obra.

Existen otras diferencias en la consideración de costes entre ambas razas. Por ejemplo, en la raza Latxa se podría distinguir entre el coste de producción de un cordero según el parto sea simple o doble, ya que algunos ganaderos consideran que el trabajo añadido de los partos dobles no compensa la ganancia extra. Sin embargo, esto no sucede en la raza Manchega. Ésta tiene más facilidad de parto que la raza Latxa, la frecuencia de partos distócicos es menor y no existen diferencias apreciables en el manejo según el número de corderos nacidos.

### **Beneficios**

Debido a estas razones (bajo precio de la leche, alto precio de la alimentación), se observa que el beneficio empresarial (una vez descontado el “salario” de los propietarios en el caso de que trabajen en la explotación) en la raza Manchega se reduce prácticamente a cero cuando se ignora la prima de la Unión Europea por animal, lo que no sucede en el País Vasco. En cualquier caso, el beneficio que se observa en las explotaciones de raza Latxa es muy alto, lo que no es lógico en empresas de competencia perfecta. Posibles explicaciones son una infraestimación de los costes de mano de obra (un salario inadecuado para los dueños de la misma) o que la empresa se esté descapitalizando al no realizar las inversiones adecuadas para la continuidad de la misma.

### **Costes de producción**

El coste de producción de leche es claramente superior en la raza Manchega, debido al mayor coste de alimentación. Lo mismo sucede con el coste del cordero; no obstante, estos corderos son de un mayor tamaño y se venden a un mayor precio. Los costes de otras actividades como la cría son similares.

### **Conclusiones**

Los sistemas de explotación de ovino de leche de raza Latxa y de raza Manchega en Castilla-La Mancha presentan situaciones económicas diferentes. Los costes en Castilla-La Mancha son mayores, especialmente en el caso de la alimentación, debido al menor uso de praderas. Esto hace que previsiblemente los pesos económicos para caracteres de interés en las dos regiones sean diferentes. Será de interés estudiar estas diferencias y si ellas afectan al diseño de los esquemas de mejora.

### **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo se ha realizado en el proyecto INIA RTA-02-002-C2. M. Ramón agradece al INIA su beca predoctoral. A. Legarra agradece su financiación parcial por el INIA. Agradecemos a AGRAMA, Abelur, Lurigintza, Lorra y Sergal y sus técnicos y a todos los ganaderos implicados en el estudio la cesión de los datos y su colaboración.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

J.P. Gibson, 1992. Economic breeding plans. Nordic graduate course, Greve, Denmark, 1992.

A. Legarra, M. Ramón, E. Ugarte, M.D. Pérez-Guzmán, 2005. Pesos económicos en ovino lechero en razas Latxa y Manchega. XI jornadas sobre producción animal de AIDA.

## **ASOCIACIÓN ENTRE LA CONDICIÓN DEL PLUMAJE Y LOS NIVELES DE ESTRÉS EN CINCO RAZAS DE GALLINAS**

M.G. Gil, J.L. Campo, O. Torres y S.G Dávila

Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

### **INTRODUCCIÓN**

La pérdida de plumas se considera un criterio de falta de bienestar en las aves y puede indicar que algún tipo de estrés ha estado presente. Un ejemplo es la inducción forzada de la muda en gallinas ponedoras, en la que se impone deliberadamente un estrés usualmente por privación del alimento. La relación entre la pérdida de plumas y los indicadores de estrés psicológico no está clara, aunque las aves mejor emplumadas suelen tener menor estrés psicológico que las peor emplumadas. Choudary y col. (1972: *Poult. Sci.* 51, 1943) indicaron que las aves con una marcada pérdida de plumas se asustaban con el más ligero movimiento del observador. Adams y col. (1978: *Poult. Sci.* 57, 48) observaron que las aves con mayor daño en el plumaje eran las más miedosas. Quart y Adams (1982: *Poult. Sci.* 61, 1606) encontraron que las aves con mejor emplume tenían menos miedo. Braastad y Katle (1989: *Br. Poult. Sci.* 30, 533) observaron que las gallinas con peor plumaje mostraban mayor agitación, y Na-Lampang y Craig (1990: *Poult. Sci.* 69, 902) indicaron una correlación negativa entre emplume y nerviosismo. Por el contrario, Campo y Alvarez (1991: *Eur. Poult. Sci.* 55, 19) observaron que la muda forzada disminuía la duración de la inmovilidad muscular, y Webster (2000: *Poult. Sci.* 79, 192) observó que las gallinas con muda inducida picaban vigorosamente los objetos nuevos, sugiriendo que eran menos miedosas. La relación entre condición de plumaje e indicadores fisiológicos del estrés no ha sido estudiada, aunque Alodan y Mashaly (1999: *Poult. Sci.* 78, 171) encontraron incrementos en el cociente de leucocitos en gallinas con muda forzada. Similarmente, Zulkifli y col. (1995: *Eur. Poult. Sci.* 59, 175) encontraron cocientes más altos en ponedoras privadas de alimento, y Maxwell y col. (1992: *Br. Poult. Sci.* 33, 177) observaron el mismo incremento en aves de carne con restricción de alimento. El propósito de este estudio era analizar la relación entre la condición del plumaje, la duración de la inmovilidad muscular (indicador psicológico del estrés), y el cociente heterófilo:linfocitos (indicador fisiológico del estrés) en cinco razas diferentes de gallinas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron cinco razas españolas de gallinas ponedoras (Castellana Negra, Andaluza Aperdizada, Vasca Roja Barrada, Villafranguina Roja, y Leonesa Parda), mantenidas en el programa de conservación del departamento de Mejora Genética Animal en El Encín. La condición del plumaje (Tauson y col., 1984: *Acta Agric. Scand.* 34, 400) se analizó a las 72 semanas de edad, utilizando una escala de 1 (muy malo) a 3 (perfecto) en cinco partes del cuerpo: dorso, cola, cuello, pecho y alas (total entre 5 y 15). Se muestrearon 120 gallinas divididas en dos grupos iguales de 60 gallinas cada uno (12 gallinas de cada raza). El grupo 1 tenía emplume muy malo en las cinco partes del cuerpo, y el grupo 2 emplume perfecto. La duración de la inmovilidad muscular (entre 0 y 600 segundos) se determinó por el método de Jones y Faure (1981: *Behav.*

Proc. 6, 47). El número máximo de intentos para inducir la inmovilidad muscular se limitó a tres. El cociente de leucocitos se determinó por el método de Lucas y Jamroz (1961: *Atlas of Avian Hematology*, USDA), contando un total de 100 leucocitos, incluyendo los granulares (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y los no granulares (linfocitos y monocitos). Se utilizó un ANOVA factorial emplume-raza, y la prueba múltiple de Student-Newman-Keuls. La transformación logarítmica (duración de la inmovilidad muscular) y la raíz cuadrada (cociente de leucocitos) se hicieron antes de los cálculos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios indicando el efecto de la condición del plumaje sobre los indicadores de miedo y estrés se resumen en la Tabla 1. Las gallinas con emplume malo tenían menor duración de la inmovilidad muscular que las gallinas con emplume perfecto, sugiriendo que eran menos miedosas. Ni la raza ni la interacción eran fuentes de variación significativas para este carácter. La duración de la inmovilidad muscular para el grupo con emplume malo era consistentemente menor en las cinco razas estudiadas, siendo máxima la diferencia en la Castellana ( $189 \pm 60$  y  $315 \pm 60$  s, respectivamente). Este resultado no concuerda con los de otros autores, que encontraron una asociación entre emplume malo y más miedo, aunque utilizaban distintos indicadores de estrés psicológico: objeto nuevo (Ouart y Adams, 1988), nerviosismo (Na-Lampang y Craig, 1990), o comportamiento agonístico (Choudary y col., 1972; Braastad y Katle, 1989). Aunque Adams y col. (1978) observaron que las aves peor emplumadas eran las más miedosas, no utilizaban un indicador objetivo. Por el contrario, los resultados concuerdan con los de otros autores en relación con la asociación entre la pérdida de plumas durante una muda forzada y menos miedo, indicado por la duración de la inmovilidad muscular (Campo y Alvarez, 1991) o la reacción frente a un objeto desconocido (Webster, 2000). El número de inducciones requerido para conseguir la inmovilidad muscular no difería significativamente en ambos grupos, con el 20% de las aves requiriendo dos inducciones y el 8% requiriendo tres inducciones. Las diferencias entre razas fueron significativas para este carácter y la interacción no era significativa. Las gallinas de la Castellana parecían menos miedosas en relación con el número de inducciones, con el 62% de las aves requiriendo más de una inducción.

El cociente entre heterófilos y linfocitos era mayor en el grupo de gallinas con emplume malo, sugiriendo mayores niveles de estrés en este grupo. Tanto la heterofilia como la linfopenia observadas en el grupo con emplume malo no fueron significativas. El cociente era significativamente menor en la raza Castellana, y no había significación para la interacción. El aumento en el cociente de leucocitos ocurría consistentemente en todas las razas, correspondiendo la máxima diferencia a la raza Andaluza ( $0,48 \pm 0,05$  y  $0,35 \pm 0,05$ ). Este resultado concuerda con los de Alodan y Mashaly (1999), Zulkifli y col. (1995), y Maxwell y col. (1992) en relación con la asociación entre la pérdida de plumas durante una restricción de alimento y mayor nivel de estrés. El efecto de la raza era significativo para los dos números de leucocitos y la interacción no era significativa. La raza con mayor número de heterófilos (Andaluza) difería

significativamente de la que tenía menor número (Castellana), y esta raza difería significativamente de la Vasca y la Leonesa para número de linfocitos.

**TABLA 1.** Valores medios para la duración de la inmovilidad muscular inducida, el número de inducciones, el cociente de leucocitos, el número de heterófilos, y el número de linfocitos en gallinas con emplume muy malo y emplume perfecto de cinco razas diferentes

Efecto	Inmovilidad muscular	Número inducciones	Heterófilos: linfocitos	Número heterófilos	Número linfocitos
<b>Emplume</b>					
Muy malo	243,03 <sup>b</sup>	1,39 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	24,86 <sup>a</sup>	64,32 <sup>a</sup>
Perfecto	322,32 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	0,35 <sup>b</sup>	21,98 <sup>a</sup>	67,26 <sup>a</sup>
Error típico	26,81	0,07	0,02	1,09	1,29
<b>Raza</b>					
Vasca	287,17 <sup>a</sup>	1,08 <sup>c</sup>	0,44 <sup>a</sup>	24,79 <sup>ab</sup>	60,66 <sup>b</sup>
Leonese	256,46 <sup>b</sup>	1,25 <sup>bc</sup>	0,42 <sup>a</sup>	24,62 <sup>ab</sup>	60,87 <sup>b</sup>
Andaluza	314,79 <sup>a</sup>	1,33 <sup>b</sup>	0,41 <sup>a</sup>	26,29 <sup>a</sup>	67,29 <sup>ab</sup>
Villafranguina	303,29 <sup>a</sup>	1,21 <sup>bc</sup>	0,39 <sup>a</sup>	22,87 <sup>ab</sup>	67,33 <sup>ab</sup>
Castellana	251,67 <sup>a</sup>	1,79 <sup>a</sup>	0,26 <sup>b</sup>	18,54 <sup>b</sup>	72,79 <sup>a</sup>
Error típico	42,39	0,11	0,04	1,72	2,03

<sup>a b c</sup> Valores medios dentro del mismo efecto y columna con distinto superíndice difieren ( $P < 0.05$ )

## **ESTIMACIÓN DE LA HEREDABILIDAD DEL COCIENTE HETERÓFILOS: LINFOCITOS EN GALLINAS PONEDORAS. EFECTOS DE LA EDAD, SEXO, Y CRUZAMIENTO**

S.G. Dávila y J.L. Campo

Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y  
Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

### **INTRODUCCIÓN**

El cociente entre heterófilos y linfocitos es un indicador fisiológico de la respuesta al estrés en aves (Gross y Siegel, 1983: *Avian Dis.* 27, 972), causando los agentes estresantes un incremento progresivo en este indicador. Este cociente es un indicador más fiable del estrés moderado que la concentración de corticosterona en el plasma (Maxwell, 1993: *World's Poult. Sci. J.* 49, 34). Gross y Siegel (1993: *Livestock, Handling and Transport*, CABI) han sugerido que valores de referencia para el cociente de 0,2, 0,5 y 0,8 son característicos de niveles de estrés bajos, óptimos y altos, respectivamente. El cociente está correlacionado negativamente con indicadores de estrés psicológico tales como la duración de la inmovilidad muscular (Campo y Redondo, 1997: *Proc. V Congreso Europeo Bienestar Avícola* 1, 163). Aunque la heredabilidad del cociente de leucocitos no ha sido estimada previamente, existen en la literatura estimas de la heredabilidad de la duración de la inmovilidad muscular (Campo y Carnicer, 1993: *Poult. Sci.* 72, 2193). La edad, el sexo, y la heterosis pueden influir en el valor del cociente. Zulkifli y Siegel (1994: *Br. Poult. Sci.* 35, 309) indicaron que el cociente disminuye cuadráticamente durante la primera semana de edad, mientras que Davis y col. (2000: *Poult. Sci.* 79, 514) encontraron que el cociente aumentaba desde las 20 hasta las 51 semanas de edad. Campo y col. (1999: *Eur. Poult. Sci.* 63, 1) indicaron que las hembras tienen un cociente de leucocitos más alto que los machos a las 24 semanas de edad. Los objetivos de este estudio fueron estimar la heredabilidad del cociente de leucocitos por REML y evaluar los efectos de la edad, el sexo, y la heterosis.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizó una raza sintética de gallinas (Castellana Codorniz), originada a partir del cruce  $F_2$  entre la Castellana Negra y la Prat Leonada (Campo, 1991: *Poult. Sci.* 70, 1469), en los Experimentos 1 y 3. En el Experimento 1 se usaron 711 aves (330 machos y 381 hembras), pertenecientes a dos generaciones consecutivas (193 y 518 aves, respectivamente) con genealogía completa, para estimar la heredabilidad del cociente de leucocitos a las 36 semanas de edad. En el Experimento 2 se usó el cruce Castellana Codorniz x Leghorn Blanca para analizar los posibles efectos heteróticos. Un total de 96 aves de las generaciones  $F_1$  y  $F_2$  (48 aves de cada generación) se analizaron para el cociente de leucocitos a las 8 semanas de edad. Para estudiar el efecto de la edad, se usaron 288 hembras en el Experimento 3 divididas en ocho grupos iguales de 36 aves, que fueron analizadas para el cociente de leucocitos a las 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 y 36 semanas. Un total de 288 machos fueron analizados similarmente.

El cociente de leucocitos se determinó por el método de Lucas y Jamroz (1961: *Atlas of Avian Hematology*, USDA), contando un total de 100 leucocitos, incluyendo los granulares (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y los no granulares (linfocitos y monocitos). En el Experimento 1, se utilizó un modelo mixto de Henderson, con el sexo y la generación como efectos fijos, y el método indirecto de Misztal y Gianola (1987: *J. Dairy Sci.* 70, 716). El algoritmo libre de derivadas de Graser y col. (1987: *J. Anim. Sci.* 64, 1362) se utilizó para estimar los componentes de la varianza por REML. La transformación raíz cuadrada se hizo antes de los cálculos. En el Experimento 2, la heterosis se expresó como la diferencia entre la generación  $F_1$  o la  $F_2$  y la media de la generación inicial. En el Experimento 3, se utilizó un ANOVA factorial edad-sexo, y la prueba múltiple de Student-Newman-Keuls. La suma de cuadrados debida a la edad se dividió en términos lineales, cuadráticos y cúbicos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se resumen los valores obtenidos para las estimas de parámetros del cociente de leucocitos (Experimento 1), así como para el número de heterófilos y el de linfocitos. El coeficiente de variación para el cociente de leucocitos era alto (51%), aunque el número de heterófilos y el de linfocitos era menos variable (29 y 19%, respectivamente). Los tres caracteres eran altamente heredables, siendo la heredabilidad de la raíz cuadrada del cociente de leucocitos  $0,63 \pm 0,07$ , similar a la obtenida con el cociente. En el Experimento 2, se obtuvieron porcentajes de heterosis significativos en las generaciones  $F_1$  y  $F_2$  para el cociente de leucocitos a las ocho semanas (-26 y -36%), el número de heterófilos (-26 y -29%), y el número de linfocitos (8 y 12%). En el Experimento 3, había interacción significativa entre la edad y el sexo para los tres caracteres. Los machos tenían mayor cociente de leucocitos, mayor número de heterófilos, y menor número de linfocitos que las hembras excepto a las 28 y a las 32 semanas de edad (Tabla 2). Las diferencias eran significativas a las 16, 20, 24 y 36 semanas para el cociente y el número de heterófilos, y a las 8, 16, 20 y 24 semanas para el número de linfocitos. La variación asociada con la edad fue significativa en ambos sexos para el cociente de leucocitos, obteniendo un valor mínimo alrededor de la madurez sexual (20 semanas), y un aumento significativo a partir de dicha edad. El efecto de la edad fue también significativo en ambos sexos para el número de heterófilos, y en las hembras para el número de linfocitos.

El alto valor encontrado para el cociente de leucocitos a las 36 semanas puede indicar que valores próximos a 0,8 no son característicos de altos niveles de estrés (Gross y Siegel, 1993), ya que las aves del experimento no fueron estresadas deliberadamente. Las hembras tenían valores significativamente más bajos que los machos, cercanos al valor 0,5 sugerido por Gross y Siegel (1993) como característico de un nivel óptimo de estrés. El cociente encontrado en las hembras es similar al indicado por Campo y Redondo (1997) en esta raza. La alta cantidad de variación encontrada en el cociente tenía un 60% de componente genética aditiva, sugiriendo que puede obtenerse una buena respuesta a la selección para este carácter. Aunque cabría esperar pocos efectos heteróticos en un carácter de alta heredabilidad, se encontró una heterosis significativa a las ocho semanas. La discrepancia podría deberse al aumento de la heredabilidad esperado con la edad. La variación significativa encontrada con la edad en ambos sexos hace difícil extraer conclusiones generales sobre las estimas de

heredabilidad para este carácter. La variación con la edad encontrada por otros autores (Zulkifli y Siegel, 1994; Davis y col., 2000) es consistente con la disminución observada hasta la madurez sexual y el aumento posterior hasta la edad adulta. El mínimo encontrado en ambos sexos con la llegada de la madurez sexual sugiere una relación entre el carácter y cambios hormonales, como ya se encontró para la duración de la inmovilidad muscular por Campo y Carnicer (1993).

**TABLA 1.** Estimaciones de parámetros para el cociente entre heterófilos y linfocitos (H:L), el número de heterófilos (H), y el número de linfocitos (L), a las 36 semanas de edad.

Parámetro	H:L	H	L
Media	0,74	37,38	55,86
Desviación típica	0,38	11,02	10,81
Varianza genética aditiva	0,08	59,71	70,60
Varianza residual	0,06	46,32	37,33
Heredabilidad	0,59	0,56	0,65
Error típico heredabilidad	0,09	0,07	0,07

**TABLA 2.** Cuadrados medios y valores medios indicando el efecto de la edad para cada sexo sobre el cociente entre heterófilos y linfocitos (H:L), el número de heterófilos (H), y el número de linfocitos (L)

Fuentes de variación	H:L		H		L	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
Edad (7)	0,4414***	0,1427***	1445,53***	645,33***	1105,93***	172,54
Lineal (1)	0,0388*	0,0175**	130,21*	71,25**	99,57*	17,17
Cuadrática (1)	0,0129	0,0085*	61,65	45,41**	11,81	3,06
Cúbica (1)	0,0092	0,0006	16,90	8,82*	35,80	0,35
Error (4)	0,0063	0,0006	18,61	1,38	17,38	3,53
Residual (277)	0,0359	0,0356	98,27	88,45	109,84	100,27

Edad	H:L		H		L	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos	Hembras	Machos
8	0,43 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0,56 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	24,71 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	30,19 <sup>a</sup> <sub>BC</sub>	65,85 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	57,92 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
12	0,42 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	0,59 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	25,28 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	30,17 <sup>a</sup> <sub>BC</sub>	63,69 <sup>b</sup> <sub>AB</sub>	58,33 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
16	0,36 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	0,59 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	22,25 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	31,51 <sup>a</sup> <sub>BC</sub>	68,19 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	57,71 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
20	0,31 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	0,51 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	19,78 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	28,03 <sup>a</sup> <sub>C</sub>	68,61 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	59,06 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
24	0,37 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	0,62 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	20,39 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	30,71 <sup>a</sup> <sub>BC</sub>	65,97 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	54,49 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
28	0,70 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	0,63 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	33,61 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	31,25 <sup>b</sup> <sub>BC</sub>	53,94 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	56,39 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
32	0,67 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	0,66 <sup>a</sup> <sub>B</sub>	35,14 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	35,47 <sup>b</sup> <sub>B</sub>	56,34 <sup>b</sup> <sub>C</sub>	57,09 <sup>b</sup> <sub>A</sub>
36	0,61 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	0,84 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	33,83 <sup>b</sup> <sub>A</sub>	41,77 <sup>a</sup> <sub>A</sub>	59,11 <sup>b</sup> <sub>BC</sub>	52,35 <sup>b</sup> <sub>A</sub>

<sup>a b</sup> Valores medios dentro del mismo carácter y fila con distinto superíndice difieren ( $P < 0.05$ )

<sub>A B C</sub> Valores medios dentro del mismo carácter y columna con distinto subíndice difieren ( $P < 0.05$ )



## ESQUEMA DE SELECCIÓN DE LA RAZA ASSAF EN LEÓN

M.A. Jiménez<sup>1</sup>; J.J. Jurado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INIA. Departamento de Mejora Genética Animal. Carretera de La Coruña, Km. 7. 28040 Madrid.

### INTRODUCCIÓN

La raza Assaf española, de origen israelí, fue introducida en España en los años 70, destacando su difusión en regiones como Castilla y León donde se usó en cruzamientos por absorción de razas autóctonas. Desde su introducción se ha utilizado para la producción de leche, debido a los elevados rendimientos lecheros que presenta por lactación, y en la actualidad figura en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España por estar suficientemente adaptada al ecosistema español y ser de interés productivo y económico.

En 1998 se inició un programa de Mejora Genética y Selección de ovejas de raza Assaf española, puesto en marcha y financiado por la Diputación de León. Formando parte de la organización de este esquema se encuentra Asociación de Ganaderos de la raza Assaf de la provincia de León (GAN), la Diputación de León (DL), el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de León, el Departamento de Reproducción Animal de la Universidad de León (DRUL) y el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias de Madrid (INIA). Se está realizando la valoración genética de reproductores para producción de leche, utilizando la información recogida a través del control lechero y los registros genealógicos de los animales. El presente trabajo tiene como objetivo principal describir el plan de Mejora Genética desarrollado en esta raza, así como la presentación de algunos resultados obtenidos después de varios años de funcionamiento del programa.

### MATERIALES Y MÉTODOS

La información recogida en este estudio ha sido utilizada y es el resultado de la última valoración genética, realizada en Diciembre de 2004. Se incluyen datos de control lechero desde el año 1991 hasta el mes de Octubre de 2004, procedentes de 56 ganaderías. También se incluye la información recogida a través de los registros genealógicos y de las campañas de inseminación realizadas desde el año 1998 hasta el año 2003.

El **objetivo de selección** del esquema de selección de la raza Assaf se basa en el incremento de la producción de leche por lactación, utilizando como **criterio de selección** la cantidad de leche producida en 150 días de lactación. Siguiendo el criterio desarrollado por los esquemas más consolidados de algunas razas autóctonas españolas como la Manchega (Pérez-Guzmán *et al.*, 1996), la Latxa o la Churra (UGARTE *et al.*, 2002), se ha estado utilizado la producción tipificada a 120 días de lactación. Sin embargo, dados los altos niveles productivos de las ovejas de raza Assaf y la persistencia de su lactación (JIMENEZ *et al.*, 2004) en su comparación con otras razas, en la última evaluación se ha empleado la producción tipificada a 150 días de lactación.

Los rebaños pertenecientes a GAN forman el núcleo de selección, y se encuentran sometidos a un **control lechero oficial**, siendo considerados ganaderías colaboradoras del programa de selección (están obligados a cumplir una serie de requisitos sanitarios, registro de nacimientos, inseminación y conservación de las hijas de IA). El control lechero tiene una frecuencia mensual y la metodología empleada es la de tipo AT, que supone el control mensual de uno de los ordeños del rebaño, alternado entre el ordeño de la mañana y de la tarde. Tanto el control lechero como la informatización de los resultados es realizado por el CSIC de León.

Aunque de momento no existe un Libro Genealógico oficial, puesto que la raza Assaf no ha sido reconocida oficialmente hasta hace poco, se ha realizado una recogida de **información genealógica** por parte de los ganaderos, a través del libro de partos y de la relación de altas y bajas de los animales. Tampoco existe un control de paternidad, siendo únicamente fiables para las valoraciones genéticas las

paternidades procedentes de las inseminaciones. La recogida, contrastación y elaboración de dosis seminales para las **inseminaciones** es realizada por el DRUL, que además se encarga de realizar el entrenamiento y la extracción de semen de los machos. Estos animales se encuentran en el Centro de IA asociado al programa de Mejora Genética, propiedad de la DL.

Cada año se incorpora un número determinado de machos jóvenes al Centro, admitiéndose solo animales portadores de al menos un alelo ARR con el objetivo de erradicar los genotipos sensibles al Scrapie. Tras un proceso de entrenamiento para la extracción de semen, se eliminan los que presentan problemas en el salto, desarrollan alguna enfermedad o mueren, sometiéndose el resto a las pruebas de testaje. Los machos seleccionados son hijos de las mejores hembras de los rebaños de GAN. Todos los rebaños están obligados a inseminar, como mínimo, el 20% de sus efectivos para conseguir una adecuada **conexión genética** de los rebaños, además de obtener un número suficiente de hijas de IA.

La **evaluación genética** de los animales se realiza utilizando la metodología BLUP modelo Animal con medidas repetidas. El INIA se encarga de realizar la valoración genética y la elaboración del catálogo de machos. El modelo empleado incluye aquellos efectos ambientales que influyen en la lactación: rebaño-año-estación de parto, tipo de parto, número de lactación, e intervalo entre el parto y el primer control. Como efectos aleatorios se incluyen el efecto genético y el ambiental permanente. Los parámetros genéticos utilizados se han calculado como el promedio de los obtenidos en distintas referencias bibliográficas (BOICHARD, 1989; BISHOP Y SULLIVAN, 1994; WIGGANS, 1994) y han sido de 0,20 para la heredabilidad y 0,40 para la repetibilidad. El paquete de programas empleado es BLUP-AM (JURADO, 2003).

Cada seis meses se elabora un catálogo de machos que incluye un listado de los sementales valorados genéticamente, así como de las ovejas que presentan el mayor mérito genético dentro del núcleo de selección, pudiendo ser consideradas como madres de futuros sementales. Posteriormente y de forma individualizada, a cada ganadero asociado se le proporciona la información propia de su explotación, siendo ésta utilizada para realizar la reposición de los animales del rebaño. Esta información incluye un listado con las 35-40 mejores hembras valoradas genéticamente de su rebaño (pudiendo ser utilizadas como madres del recrío), y el valor genético de cada uno de las ovejas presentes en la explotación, junto con la fiabilidad de la valoración. También se proporciona un documento que refleja la evolución anual del nivel genético y del efecto manejo-alimentación de cada rebaño.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como se observa en el Cuadro 1, se dispone de un total de 119.984 lactaciones (140.882 partos), correspondientes a 44.744 ovejas. Del total de las lactaciones tipificadas, el 24% de las mismas son lactaciones extendidas, es decir, lactaciones que por diversas causas no han llegado a una duración de 150 días. Para realizar la extensión de las lactaciones se ha seguido la metodología propuesta por DANELL (1982). El registro genealógico está constituido por 58.262 animales de los que 17.770 cuentan con madre conocida (12.395 madres distintas) y 1.648 son hijas de IA (81 machos distintos). Comparando estos datos con los obtenidos en valoraciones anteriores (CHICO *et al.*, 2001; JIMÉNEZ *et al.*, 2004) se observa una mejoría en lo que al número de lactaciones disponibles y estructura genealógica se refiere. Sin embargo, estos valores resultan, aún, inferiores a los presentados en otras razas como la Manchega, la Latxa o la Churra (JURADO *et al.*, 2004).

La producción media de leche tipificada a 150 días es de 233,66 litros, con un valor máximo de 827,1 litros (Cuadro 1). Se ha producido una evolución fenotípica ascendente desde los inicios del programa, pasando de 171,6 litros en el año 1993 a 254,33 y 271,26 litros en los años 2003 y 2004, respectivamente. Este aumento es debido, en parte, al programa de selección, contribuyendo también de forma importante el cambio en las prácticas de manejo. Así podemos apreciar un cambio en el valor genético medio anual de las ovejas que han pasado de tener valores

negativos en los años 90, a positivos en los años finales (1,32 y 1,61 en 2003 y 2004).

Cuadro 1. Información relacionada con la producción de leche y la información genealógica.

	Nº Partos	Nº Lactaciones		Nº Ovejas	
Control lechero	140.882	119.984		44.744	
	N	$\mu$	SD	Max	Min
Producción de leche (150 días)	119.984	233,66	93,34	827,1	50,1
	Nº Animales	Animales con madre	Madres distintas	Hijas IA	Machos de IA
Genealogía	58.262	17.770	12.395	1.648	81

N: Número de datos.  $\mu$  : Media. SD: Desviación Estándar. Max: Valor máximo. Min: Valor mínimo. IA: Inseminación Artificial

En lo que a la inseminación se refiere, también se observa un aumento del número de inseminaciones realizadas desde el año 1998 con 1.903 inseminaciones válidas, hasta el 2003 con 4.082. Los rebaños se consideran conectados si existe un mínimo de 10 hijas de tres machos diferentes, y la fiabilidad mínima de las hijas supera el 30%. Según las restricciones impuestas, para el total de los 37 rebaños sometidos a control lechero en el año 2004, tan sólo 15 se consideran genéticamente conectados. Sin embargo, el número de rebaños conectados aumenta en cada nueva campaña de inseminación. El 57% de las hijas de IA (939) tienen dato de lactación, habiéndose valorado un total de 72 sementales, de los cuales han sido declarados mejorantes los que han obtenido fiabilidades superiores al 60% (7 moruecos).

Según los datos presentados en este estudio, el esquema de selección puesto en marcha en la raza Assaf, aunque presenta valores de producción superiores, se encuentra menos desarrollado comparado con otros esquemas de selección más avanzados y con caminos recorridos superiores. Sin embargo, se observa una evolución positiva del programa de selección desarrollado, mostrando un funcionamiento acorde con los medios disponibles.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BISHOP S., SULLIVAN B.P., 1994. Proc 5<sup>th</sup> WCGALP. 18,175-177. Guelph. Ontario (Canadá).
- BOICHARD D., 1989. Genet. Sel. Evol. 21, 205-215.
- CHICO M.D., SERRANO M., MANTECÓN A.R., JURADO J.J., MARTÍNEZ S., 2001. Actas de las XXVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. (Sierra, I.; Alcalde, M.J.; González, P.; Fernández, V.; Morales, F.A., ed.). Junta de Andalucía. Sevilla (España).
- DANELL B., 1982. Acta Agriculture Scandinavica, 32, 104-113.
- JIMÉNEZ A., SERRANO M., JURADO J.J., 2004. La raza Assaf española en la provincia de León. 1. Situación actual. ITEA (en fase de revisión).
- JURADO J.J., 2003. Catálogo de Software de Interés en Agricultura. INIA. Madrid.
- JURADO J.J., JIMÉNEZ A., SERRANO M., 2004. Ozono, Suplemento de Naturaleza El Correo Gallego. Junio 2004.
- PÉREZ-GUZMÁN M.D., JURADO J.J., SERRANO M., MONTORO V., 1996. ITEA, 92A (3), 22-30.
- UGARTE E., SERRANO M., DE LA FUENTE L.F., PÉREZ-GUZMÁN M.D., ALFONSO L., GUTIÉRREZ J.P., 2002. ITEA, 98A (2), 102-117.
- WIGGANS G.R., 1994. Proc 5<sup>th</sup> WCGALP. 18,178-181. Guelph. Ontario (Canada).

## ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE LA RAZA ASNAL CATALANA A PARTIR DE SU INFORMACIÓN GENEALÓGICA

J. Marmi<sup>1</sup>, F. Goyache<sup>2</sup>, J.P. Gutiérrez<sup>3</sup> y J. Jordana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra (Barcelona)

<sup>2</sup>SERIDA-Somió, c/. Camino de los Claveles 604, 33203-Gijón (Asturias)

<sup>3</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid

### INTRODUCCIÓN

El asno catalán es una de las razas asnales que se encuentra en mayor peligro de extinción. Actualmente se distribuye, de forma mayoritaria, en el Pirineo y pre-Pirineo catalán, aunque también existen pequeñas poblaciones en Huesca, Toledo y Sevilla. Esta raza ha pasado por dos cuellos de botella considerables a lo largo de siglo XX. El primero fue durante la Guerra Civil Española (1936-1939), cuando estuvo a punto de desaparecer. Al finalizar la Guerra, y durante las dos décadas siguientes, la población se recuperó considerablemente gracias al creciente uso de esta raza en los sistemas de producción agraria, coincidiendo con el retorno a los sistemas de trabajo tradicionales. Sin embargo, en los años 60 y 70, la crisis que afectó el sector equino junto con la mecanización y el despoblamiento cada vez mayor del medio rural, hicieron que el tamaño de sus poblaciones volviera a disminuir de forma alarmante.

Desde finales de los años 70 se han llevado a cabo todo un conjunto de iniciativas para evitar la desaparición de esta raza. En 1978 se fundó la "Associació del Foment de la Raça Asinina Catalana (AFRAC)" y se reabrió su libro genealógico. En los años posteriores a 1978 otros criadores se asociaron a la AFRAC registrando también sus animales en el libro genealógico. Actualmente AFRAC incluye la mayor parte de localidades catalanas entre las cuales hay un intercambio notable de individuos reproductores. A finales de 1994 empezó el Programa de Conservación del Asno Catalán con dos prioridades: conservar la máxima cantidad de diversidad genética y evitar en lo posible el incremento de consanguinidad por generación (Jordana y Folch, 1998). En este sentido, en el presente trabajo hemos estudiado la variabilidad genética del asno catalán mediante el análisis de su pedigrí desde la reapertura de su libro genealógico hasta el año 2002, con el objetivo de testar la eficacia de las diferentes estrategias de apareamiento en la conservación de la variabilidad genética de esta raza.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado la genealogía de 510 animales pertenecientes a las siguientes subpoblaciones: AFRAC (N=229), Berga (subpoblación catalana formada por un único rebaño en la que la introducción de sementales de otras subpoblaciones ha sido mínima) (N=193), Sevilla (N=46), Huesca (N=26) y Toledo (N=16). Con el programa ENDOG 3.0 (Gutiérrez y Goyache, 2005) se han calculado los siguientes parámetros poblacionales: número efectivo de fundadores ( $f_e$ ) (James, 1972), número efectivo de ancestros ( $f_a$ ) (Boichard et al., 1997), el coeficiente de consanguinidad ( $F$ ) (Wright, 1931), el coeficiente de relación media ( $AR$ ) (Goyache et al., 2003) y los estadísticos  $F$  (Caballero y Toro, 2002).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 aparecen los valores de los parámetros calculados. El número de animales fundadores (sin los dos padres conocidos) registrados en el libro genealógico del asno catalán fue de 128. Teniendo en cuenta también los animales de los que se conoce

uno de los padres, el número equivalente de fundadores ascendió a 146.5. En cambio, el número efectivo de fundadores fue tan solo de 70.6, lo que indica que por cada fundador que ha contribuido genéticamente a la población, hay otro del cuál se ha perdido el genotipo. Esto, juntamente con la baja representación de los animales nacidos entre los años 60 y 70 (sus genes explicaban el 40% de la variabilidad genética total), nos hace pensar que ha habido una importante pérdida de genotipos ancestrales en esta raza.

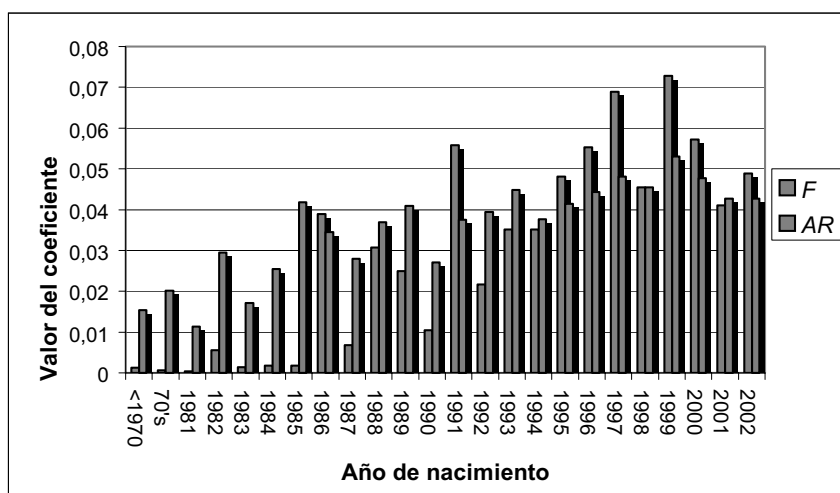
El bajo valor del número efectivo de ancestros ( $f_s=27$ ), el hecho de que sólo 11 ancestros explicaban el 50% de la variabilidad genética de la raza y los moderadamente elevados coeficientes de consanguinidad obtenidos a partir de todo el pedigrí ( $F=3.36\%$ ) y de la población viva ( $F=4.71\%$ ), sugieren que algunos individuos están sobre-representados. Esto habría supuesto una importante pérdida de variabilidad genética en el asno catalán. La Figura 1 muestra cómo los valores totales de los coeficientes de consanguinidad y de relación media han ido aumentando año tras año. El coeficiente de relación media es un buen indicador para prevenir futuros aumentos de consanguinidad en una población (Goyache et al., 2003). Aunque los incrementos de relación media han sido más moderados que los de consanguinidad, los elevados valores de  $AR$  obtenidos desde mediados de los 80 hasta 2002 nos hacen prever que la consanguinidad de la raza irá aumentando en el futuro de no tomarse medidas correctoras. No obstante, el análisis por separado de las dos subpoblaciones mayores (AFRAC y Berga) nos muestra un patrón más complejo. AFRAC es la subpoblación con mayor número de fundadores y es donde éstos están más representados genéticamente; además tiene el valor más bajo de consanguinidad (ver Tabla 1). Estos valores son fruto del intercambio frecuente de animales reproductores entre las diferentes localidades y rebaños que forman parte de la asociación. En cambio los animales de Berga explican la mayor parte de variabilidad genética de la raza, y donde se han obtenido los mayores valores de consanguinidad y de relación media. Esto se explica por la notable contribución que han tenido algunos de los sementales de Berga dentro y fuera de esta subpoblación y por el hecho que aquí se ha evitado, de forma importante, importar animales de otras localidades como reproductores. En AFRAC se ha apostado por el mantenimiento de la variabilidad genética de la raza, lo que puede conducir a la posibilidad de poder realizar programas de selección y mejora, en el futuro, dentro de esta subpoblación. En Berga se ha optado por tener una subpoblación morfológicamente homogénea, priorizando el papel de unos pocos individuos como reproductores a pesar de los problemas (p.e. reproductivos) que pueden derivarse del incremento de consanguinidad. Las poblaciones no catalanas tienen un mínimo efecto en los valores de variabilidad genética totales a causa de su pequeño tamaño poblacional. Esto, conjuntamente con su aislamiento geográfico, hace que sean muy vulnerables a futuros aumentos de consanguinidad si no incorporan individuos reproductores externos. No obstante, por el momento, aún tienen valores de consanguinidad y de relación media notablemente menores que Berga (Tabla 1).

Los valores de  $F_{IS}=0.0289$  y  $F_{IT}=0.0370$  sugieren que la consanguinidad de un individuo es superior a la consanguinidad media de la subpoblación a la que pertenece y a la consanguinidad media de la población total, lo que está de acuerdo con lo comentado anteriormente. No obstante, descartamos que sea una consecuencia del aislamiento poblacional dada la escasa estructuración genética poblacional que presenta el asno catalán, de acuerdo con nuestros análisis ( $F_{ST}=0.0083$ ). Aranguren-Méndez et al. (2002) encontraron también pocas evidencias de estructuración poblacional utilizando marcadores microsatélites. La escasa diferenciación genética del asno catalán, a pesar del aislamiento geográfico de las subpoblaciones de Sevilla, Huesca y Toledo, puede explicarse por el pequeño tamaño poblacional de éstas y porque la mayor parte de individuos no fundadores poseen un elevado grado de parentesco con individuos de las subpoblaciones catalanas.

**Tabla 1.** Valores poblacionales y de diversidad genética obtenidos en el asno catalán.

Población	Total	AFRAC	Berga	Sevilla	Huesca	Toledo
Número total de animales	510	229	193	46	26	16
Animales sin padres conocidos	128	75	33	7	8	5
Número equivalente de fundadores	146.5	85.5	39.5	8	8	5.5
Contribución genética de los fundadores (%)	100	53.43	34.45	6.01	4.45	1.66
Número de ancestros	93	48	28	6	7	4
Variabilidad explicada por ancestros (%)	100	36.52	51.44	4.26	6.91	0.87
Coefficiente de consanguinidad	3.36	0.73	7.22	2.17	0.48	2.81
Coefficiente de relación media	3.76	1.98	6.61	2.78	1.39	1.66

**Figura 1.** Evolución de los coeficientes de consanguinidad ( $F$ ) y de relación media ( $AR$ ) en el asno catalán en los animales nacidos por año.



#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya. También agradecemos a l'Associació del Foment de la Raça Asinina Catalana (AFRAC) su ayuda por facilitarnos los datos usados en los análisis.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranguren-Méndez, J.A., Gómez, M., Jordana, J. 2002. *Heredity* 87, 209-211.
- Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E. 1997. *Genet. Sel. Evol.* 29, 5-23.
- Caballero, A., Toro, M.A. 2002. *Conserv. Genet.* 3, 289-299.
- Goyache, F., Gutiérrez, J.P., Fernández, I., Gómez, E., Álvarez, I., Díez, J., Royo, L.J. 2003. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, 95-103.
- Gutiérrez, J.P., Goyache, F. 2005. *J. Anim. Breed. Genet.* (en prensa).
- James, J.W. 1972. *Theor. Appl. Genet.* 42, 272-273.
- Jordana, J., Folch, P. 1998. *Arch. Zootec.* 47, 403-409.
- Wright, S. 1931. *Genetics* 16, 97-159.

## ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE DOMINANCIA EN LA DETERMINACIÓN DE LA LONGEVIDAD DEL CONEJO DE CARNE

J.P. Sánchez<sup>a</sup>, M. Baselga<sup>a</sup>, I.R. Korsgaard<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Dep. de Ciencia Animal, UPV, Camino de Vera s/n 46022 Valencia

<sup>b</sup> Dep. of Animal Breeding and Genetics, Research Centre Foulum, Danish Institute of Agricultural Sciences, P.O. Box 50, DK-8830 Tjele, Denmark.

[juansan@dca.upv.es](mailto:juansan@dca.upv.es), [mbaselga@dca.upv.es](mailto:mbaselga@dca.upv.es)

### Introducción

Como una aproximación para el estudio de los efectos de dominancia sobre la longevidad en poblaciones consanguíneas se propone la inclusión en los modelos de un efecto de dominancia asociado a cada animal, con matriz de (co)varianzas D, y de la consanguinidad misma como una covariable lineal (Boer y Hoeschele, 1993). La longevidad es un carácter de baja heredabilidad, por lo que se plantea la posibilidad de estudiar otros modos de acción génicos distintos a la aditividad que pudieran determinar genéticamente la longevidad.

El objetivo de este trabajo es investigar si la dominancia es un modo de acción génica relevante en la determinación genética de la longevidad en una población de conejos de producción cárnica.

### Material y Métodos

#### *Animales*

La base de datos procede de un núcleo de selección, en el que el manejo es semi-intensivo, las cubriciones se hacen a 11 días postparto, el control de gestación se hace por palpación abdominal a los 12 días de la cubrición (monta natural) y el destete se hace a los 35 días, aunque se hace un control del número de animales vivos a los 28 días, el resultado de este control es la variable criterio de selección. Las generaciones se suceden como generaciones discretas, sin solape reproductivo. En total se tienen datos de 2400 hembras, que representan las 13 primeras generaciones de selección de este núcleo. El fichero de genealogía consta de 3031 animales.

#### *Carácter y Modelos*

El carácter estudiado es el número de días desde la primera palpación positiva hasta la muerte o eliminación por alguna causa patológica de la hembra.

Los modelos empleados son modelos de riesgos proporcionales en los que la función de riesgo base se aproxima por una función de escalera, definiendo el riesgo base como constante entre dos tiempos de muerte sucesivos (Korsgaard y col., 1998).

Se proponen tres modelos:

M1.- Modelo animal aditivo.

M2.- Modelo animal aditivo y dominante.

M3.- Modelo animal aditivo y dominante con consanguinidad como covariable lineal.

Para los tres modelos los efectos sistemáticos fueron los mismos:

i.- Efecto año-estación (AE), dependiente del tiempo con 37 niveles, definiendo los cambios de nivel el 1 de enero, el 1 de abril, el 1 de julio y el 1 de octubre de cada año.

ii.- Efecto de la combinación entre el número de ciclo (NC), definido por las fechas de las palpaciones positivas, con 3 niveles, (1, 2 y =3) y el estado fisiológico (EP), con 4 niveles (gestante, lactante, gestante & lactante y vacía).

iii.- Efecto de la combinación entre el estado fisiológico (EP) y el número de nacidos vivos (NV). El número de nacidos vivos se categorizó en 9 niveles, el primero incluyó a las hembras cuando eran nulíparas, el segundo a los partos con cero nacidos vivos, el tercero a partos con 1 o 2 nacidos vivos, y así hasta el nivel noveno que incluyó partos con 13 o más nacidos vivos.

En M1, M2 y M3 la inversa de la matriz de relaciones de parentesco aditivas se calculó usando las reglas de Henderson y considerando la consanguinidad.

En M2 y M3 la inversa de la matriz de relaciones de parentesco dominantes se calculó por inversión directa de la matriz de relaciones de parentesco dominantes, calculada a partir de las relaciones aditivas (Rico, 1999):

Elemento de la diagonal:  $D_{ii} = 1 + F_i^2$ .

Elemento de fuera de la diagonal:  $D_{ij} = \frac{1}{4}[A_{hq} * A_{kl} + A_{hl} * A_{kq}]$ .

Siendo h, k los padres de i y q, l los padres de j.

Todos los modelos incluyeron un término residual para tener en consideración otros efectos de naturaleza no genética y no dependientes del tiempo que pudieran actuar sobre el carácter.

Se definen dos ratios de varianza, en la escala del logaritmo de  $g_i(t)$  siendo

$g_i(t) = \int_0^t \lambda_0(s) \exp\{x_i(s)\beta\} ds$  (Korsgaard y col., 2002).  $g_i(t)$  es el riesgo acumulado para

el animal i debido a efectos dependientes del tiempo del modelo: riesgo base  $\lambda_0(s)$  y efectos sistemáticos dependientes del tiempo en  $\beta$  y seleccionados para cada tiempo por  $x_i(s)$ . Los ratios fueron:  $h^2_{\log} = \sigma_a^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2 + \frac{\pi^2}{6})$  y

$d^2_{\log} = \sigma_d^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2 + \frac{\pi^2}{6})$ .

La estimación de los parámetros de los modelos se llevó a cabo usando métodos bayesianos, la marginalización para hacer inferencias de las distribuciones marginales posteriores de los parámetros de interés se hizo vía muestreo de Gibbs, usando Adaptive Rejection Sampling para muestrear de las condicionales con forma desconocida. El muestreo de Gibbs constó de una cadena para cada modelo de 1 millón de iteraciones con un periodo de quemado de 100 mil y reteniendo 1 de cada 100 muestras.

## Resultados

En la tabla 1 se muestran los estadísticos más relevantes de las distribuciones marginales posteriores para  $h^2_{\log}$  y  $d^2_{\log}$  y el coeficiente de regresión para la consanguinidad.

Tabla 1.- Estadísticos descriptivos de las distribuciones posteriores marginales de los ratios de varianzas y para el efecto de la consanguinidad en los tres modelos.

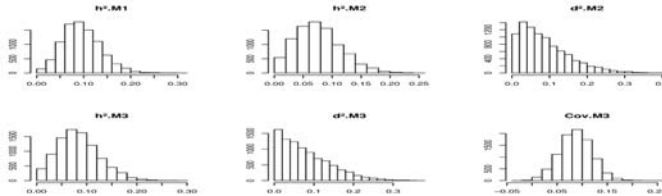
	M1				M2				M3			
	M	SD	95SI	ES	M	SD	95SI	ES	M	SD	95SI	ES
$h^2_{\log}$	0.09	0.04	0.02-0.17	787.3	0.08	0.04	0.005-0.15	495.9	0.08	0.04	0.003-0.16	458.6
$d^2_{\log}$					0.09	0.07	0-0.22	375	0.08	0.06	0-0.20	255.2
Cov									0.09	0.03	0.024-0.151	3836.6

M: Media, SD: Desviación típica, 95SI: Intervalo más pequeño con el 95% de la densidad, ES: Tamaño efectivo.



En la Figura 1 se muestran los histogramas de las distribuciones marginales posteriores para  $h^2_{\log}$  en los tres modelos, para  $d^2_{\log}$  en M2 y M3 y para el coeficiente de regresión de la consanguinidad en M3.

Figura 1.- Histogramas de las distribuciones marginales posteriores para los ratios de varianza y la covariable.



## Discusión y Conclusiones

En la Figura 1 ( $d^2.M2$  y  $d^2.M3$ ) se puede apreciar que estamos ante un problema de frontera paramétrica para  $d^2_{\log}$ . De hecho el intervalo más pequeño que contiene el 95% de la densidad (Tabla 1) incluye el cero. Con la inclusión de los efectos de dominancia en el modelo las estimas de  $h^2_{\log}$  se reducen ligeramente y aunque la desviación típica posterior es la misma, las distribuciones posteriores se hacen más asimétricas. Por lo tanto, en nuestra población se puede concluir que los efectos dominantes en la determinación genética de la longevidad son pequeños y pudiera ocurrir que la información disponible no permita detectarlos. Ducrocq y col., (2000), tampoco detectaron efectos genéticos no aditivos en la determinación genética de la longevidad en gallinas de puesta.

En cuanto al efecto de la consanguinidad se aprecia claramente que existe (Tabla 1) a pesar de que no se hayan podido detectar efectos de dominancia. Además, parece que con la inclusión de la consanguinidad en el modelo, la variación dominante se reduce ligeramente, pues el intervalo más pequeño que incluye el 95% de la densidad pasa de ser 0-0.22 (M2) a ser 0-0.20 (M3).

## Referencias

- de Boer I.J.M., Hoeschele I. 1993. Theor. Appl. Genet. 86:245-258.  
 Ducrocq V., Besbes B., Protais M. 2000. Genet. Sel. Evol. 32:23-40.  
 Korsgaard I.R., Andersen A.H., Jensen J. 2002. Genet. Sel. Evol. 34:307-333  
 Korsgaard I.R., Madsen P., Jensen J. 1998. Genet. Sel. Evol. 30:241-256.  
 Rico M, 1999. Los modelos lineales en la mejora genética animal. Ediciones Peninsular.

## ANÁLISIS GENEALÓGICO DEL PONI DE RAZA ASTURCIÓN EN UNA SITUACIÓN DE APERTURA PARCIAL DEL LIBRO GENEALÓGICO

Félix Goyache<sup>1\*</sup> Iván Fernández<sup>1</sup>, Isabel Álvarez<sup>1</sup>, Juan Pablo Gutiérrez<sup>2</sup>, y Luis José Royo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>SERIDA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias);

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid; \*e-mail: fgoyache@serida.org

### INTRODUCCIÓN

La fundación del Libro Genealógico del poni de raza Asturcón, gestionado por la Asociación de Criadores de Poni de Raza Asturcón (ACPRA), se realizó a partir de un pequeño número de animales fundadores, de capa negra compacta, recuperados de la población que se conservaba en la Montaña del Suevo en el Oriente de Asturias. Sin embargo, evidencias bibliográficas permiten conocer que la mayor parte de la población equina del Principado de Asturias hasta mediados del siglo XX se encontraba en el Occidente de Asturias y era de capa castaña (ÁLVAREZ SEVILLA, 2002). Este tipo de animales se encuentra ahora en grave riesgo. La Asociación García-Dory gestiona desde hace unos años un pequeño número de animales que responden a las características de poni céltico propias del poni Asturcón y que son mayoritariamente de capa castaña. La necesidad de preservar las poblaciones equinas del Occidente de Asturias ha tenido en los últimos años un gran eco social por lo que ACPRA se plantea la integración de estos animales en su esquema de selección. El objetivo del presente estudio es evaluar el impacto que puede tener esta integración en la población gestionada por ACPRA.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado las genealogías de 1181 animales incluidos en el Libro genealógico de ACPRA y 99 animales gestionados por la Asociación García-Dory. Para la caracterización de estas poblaciones se han calculado, mediante la versión 3.0 del programa ENDOG (GUTIÉRREZ y GOYACHE, 2005), los siguientes parámetros poblacionales: número equivalente de fundadores ( $f_{te}$ ), número efectivo de fundadores ( $f_e$ ), número efectivo de ancestros ( $f_a$ ), los coeficientes individuales de consanguinidad ( $F$ ), el coeficiente de relación media ( $AR$ ), número de generaciones equivalentes e intervalo generacional medio. La población de referencia para el cálculo del parámetro  $f_a$  ha sido la formada por los individuos de tres años o más (reproductores) vivos. El programa ENDOG 3.0 se encuentra disponible en la dirección Web <http://www.ucm.es/info/prodanim/Endog30.zip> y, aunque se ha diseñado para el análisis genealógico de pequeñas poblaciones, ha sido utilizado con éxito en bases de datos genealógicas de cierto tamaño (VALERA et al., 2005).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros poblacionales descriptivos de las dos poblaciones analizadas se encuentran en la Tabla 1. La población gestionada por ACPRA presenta unos promedios de consanguinidad y relación media altos (3,9 y 8,6%, respectivamente) aunque la profundidad del pedigrí no es grande y el intervalo generacional amplio

(2,4 generaciones equivalentes y 7,7 años, respectivamente). La población gestionada por la Asociación García-Dory tiene una escasa profundidad de pedigrí (0,7 generaciones equivalentes), no incluye animales consanguíneos y presenta un mayor dinamismo reproductivo (intervalo generacional de 5,2 años). La ratio  $f_e/f_{te}$  es de 0,23 para la población gestionada por ACPRA y 0.70 para el poni asturiano occidental. Este parámetro caracteriza el poni Asturcón como una población que ha perdido gran parte de su patrimonio genético fundacional ya que por cada fundador que contribuye de forma efectiva a la población hay tres cuya información genética se ha perdido. El número efectivo de ancestros es de 14 caracterizando el uso preferencial de ciertos reproductores. A pesar de su escaso número, la inclusión de la población de poni occidental en el esquema de ACPRA aumentaría el número efectivo de ancestros hasta 16.

**Tabla 1:** Parámetros poblacionales más importantes descriptivos de las genealogías del poni de raza Asturcón (ACPRA) y poni castaño (García-Dory). Los valores de  $F$  y  $AR$  se expresan en porcentaje y los intervalos generacionales en años

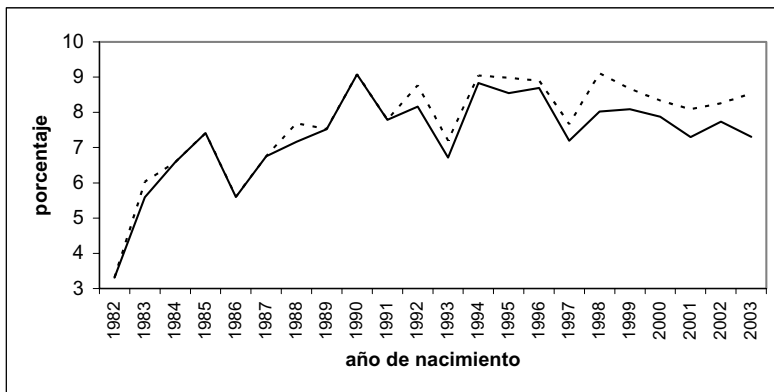
	ACPRA	García-Dory	Total
Individuos	1181	99	1280
Animales vivos de 3 o más años	725	44	769
Hembras reproductoras vivas	385	19	404
Fundadores equivalentes ( $f_{te}$ )	82	50	132
Número efectivo de fundadores ( $f_e$ )	18,8	34,8	21,4
Número de ancestros (100%)	85	40	113
Número de ancestros (50%)	7	10	8
Número efectivo de ancestros ( $f_a$ )	14	24	16
Consanguinidad media ( $F$ )	3,9	0	3,6
Relación media ( $AR$ )	8,6	0,4	7,4
Generaciones equivalentes ( $g_e$ )	2,4	0,7	2,3
Intervalo generacional medio ( $\pm$ s.d.)	7,7 $\pm$ 4,0	5,2 $\pm$ 1,8	7,6 $\pm$ 3,4

La influencia de la inclusión de la población gestionada por la Asociación García-Dory en el esquema de selección de ACPRA se puede apreciar en la Figura 1. La inclusión de un pequeño número de individuos en el Libro Genealógico disminuiría la relación media de los animales nacidos a partir de 1992 en un 0,6% y la endogamia media en un 0,35%. En condiciones de apareamientos al azar el promedio del coeficiente de relación media de los reproductores de una población debería ser el doble del valor medio de la consanguinidad en la siguiente generación. Esta relación permite que el coeficiente  $AR$  pueda ser utilizado en análisis genealógicos no sólo para fines descriptivos sino también para fines utilitarios como la programación de apareamientos en programas de minimización de la consanguinidad (GOYACHE et al., 2003).

La población de poni Asturcón gestionada por ACPRA se encuentra en una situación de grave erosión de su patrimonio genético. A pesar de su largo intervalo generacional, compatible con otros encontrados en razas equinas de mayor estructura poblacional y profundidad de pedigrí (VALERA et al., 2005), la raza ha sufrido una notable pérdida de patrimonio genético. La búsqueda de los caracteres de tipo deseables en la raza provocará previsiblemente un rápido aumento de la consanguinidad en la población. Para evitar los efectos indeseables de la endogamia

en la población general se prevé la posibilidad de incluir en el Libro Genealógico de ACPRA animales no emparentados con los actualmente existentes. Es previsible que la posible coordinación de los esquemas de conservación del Poni Asturcón y el poni asturiano occidental no conlleve, en un primer momento, el cruzamiento de ambas líneas. La gestión de ambas poblaciones con los mismos criterios de selección morfológica y productiva permitirá, a medio plazo, el aprovechamiento de los reproductores nacidos con capa negra de la población occidental.

**Figura 1:** Variación del promedio de los coeficientes de relación media (AR) por año de nacimiento del animal para la población de poni de raza Asturcón gestionada por ACPRA (línea discontinua) y para la suma de las poblaciones de poni Asturcón y poni asturiano occidental (línea continua).



Este trabajo ha sido financiado por el INIA mediante el proyecto RZ03-011. Los autores agradecen a ACPRA (<http://www.asturcones.com/>) y a la Asociación García-Dory el total apoyo prestado para su realización.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ SEVILLA, A. 2001. Les races autóctones del Principáu d'Asturies, Fundación Belenos, 33007 Uviéu/Oviedo (Principau d'Asturies).

GOYACHE, F., GUTIÉRREZ, J.P., FERNÁNDEZ, I., GÓMEZ, E., ÁLVAREZ, I., DÍEZ, J., ROYO, L.J. 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 95-103.

GUTIÉRREZ, J.P., GOYACHE, F., 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122: en prensa.

VALERA, M., MOLINA, A., GUTIÉRREZ, J.P., GÓMEZ, J., GOYACHE, F. 2005. Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Livest. Prod. Sci.*, en prensa.

**MASSA: Análisis masivo de asociación mediante ‘simulated annealing’****Miguel Pérez-Enciso<sup>1,2</sup>**<sup>1</sup> Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, Lluís Companys 23, Barcelona 08010<sup>2</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193**INTRODUCCION**

Uno de los temas de investigación más activos en la actualidad en Genética, especialmente humana, consiste en la identificación de las mutaciones causales implicadas en la variabilidad de los caracteres cuantitativos, llamados también ‘complejos’. Para ello, necesitamos de métodos estadísticos adecuados que extraigan el máximo de información de la cantidad de datos de polimorfismos que se están generando. En la actualidad, ya se han propuesto una serie de métodos, más o menos potentes y con más o menos restricciones, que intentan resolver esta cuestión. La mayoría de estos métodos están pensados para caracteres binarios (Nelson et al., 2001; Pociot et al., 2004; Ritchie et al., 2001).

En este trabajo, presentamos los fundamentos teóricos de un nuevo método que ofrece gran flexibilidad en la modelización, sin prácticamente limitaciones en el número de individuos o de marcadores. El método presenta propiedades óptimas para caracteres con distribución continua, pero puede utilizarse también con caracteres binarios. El programa MASSA implementa este método y estará disponible próximamente.

**MATERIAL Y METODOS**Teoría

Supóngase que  $n$  individuos han sido genotipados para un número  $s$  de marcadores (bialélicos o no),  $s$  puede ser (mucho) más grande que  $n$ , pero el número máximo de haplotipos nunca excederá  $2n$ . Supongamos que los haplotipos son conocidos o se pueden estimar. Un modelo general explicativo de los datos es el modelo mixto

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \mathbf{Z}\mathbf{g} + \mathbf{e} = \mathbf{X}\mathbf{b} + \sum \mathbf{Z}_j\mathbf{g}_j + \mathbf{e}, \quad (1)$$

donde  $\mathbf{y}$  contiene los fenotipos,  $\mathbf{X}$  y  $\mathbf{Z}$  son matrices de incidencia,  $\mathbf{b}$  es un vector con efectos fijos, y  $\mathbf{g}$  contiene los efectos genéticos que pueden descomponerse en una serie de loci. En lo sucesivo, entenderemos por locus una serie de marcadores que actúan conjuntamente, es decir, si hay diversas posiciones que presentan epistasia las incluimos dentro del mismo ‘locus’. Por tanto, la aditividad entre los distintos loci está garantizada por construcción del modelo. El objetivo es encontrar el modelo que mejor explica los datos con un compromiso entre mejor ajuste y mínimo número de parámetros (loci). La varianza de los valores genéticos es

$$\text{Var}(\mathbf{g}) = \sum_{j=1}^Q \mathbf{Z}_j \mathbf{G}_j \mathbf{Z}_j' \sigma_j^2$$

donde  $\mathbf{Z}_j \mathbf{G}_j \mathbf{Z}_j'$  es la matriz de varianzas covarianzas entre dos individuos para el locus en cuestión. Dado que pensamos en loci causales, la matriz  $\mathbf{G}$  es diagonal, dos haplotipos o son idénticos o no lo son. Al tratar los haplotipos como aleatorios,

disminuimos el problema de un exceso de alelos cuando los haplotipos incluyan muchos marcadores.

Un modelo viene determinado inequívocamente por un vector de tamaño  $s$ ; en cada posición, 0 por convención indica que ese marcador es neutro, y un número  $j$ ,  $1 \leq j \leq k$  indica que forma parte del locus  $j$ . Es obvio que es imposible enumerar el número total de modelos aun con un número de marcadores relativamente pequeño. Por tanto, es necesario recurrir a técnicas de maximización estocásticas. Aquí hemos empleado el simulated annealing (Kirkpatrick et al., 1983). En esta técnica, se acepta una nueva solución con probabilidad

$$P_{\text{accept}} = \text{Min}\{1, \exp[-(A_{\text{new}} - A_c)/T]\},$$

donde  $A_{\text{new}}$  ( $A_c$ ) es el valor de la función asociado a la nueva solución o a la actual y  $T$  es la 'temperatura' actual del sistema, ésta se reduce por un factor (0.9 en nuestro caso) cada cierto número de iteraciones (500-1000). Como función a minimizar utilizamos el Criterio de Información de Akaike (AIC) o el Criterio de Información Bayesiano (BIC), que vienen dados por  $AIC = -2 \log l + 2*k$ , y  $BIC = -2 \log l + \log(n)*k$ , donde  $k$  es el número de loci y  $n$ , el de observaciones. La verosimilitud se calculó mediante el programa Qxpak (Pérez-Enciso and Misztal, 2004). Es importante recordar que estamos comparando modelos que no son necesariamente jerárquicos, por lo que un test de cociente de verosimilitudes no es válido. Para el funcionamiento del SA, necesitamos criterios para proponer nuevas soluciones a testar en cada iteración. Utilizamos una serie de movimientos:

- *In*: se inserta un nuevo locus.
- *Out*: se elimina un locus.
- *Join*: se fusionan dos loci (se crea epistasia) .
- *Split*: un locus se divide en dos.
- *Glue*: dos loci consecutivos se fusionan, así como las posiciones intermedias.
- *Grow*: se añaden marcadores nuevos a un locus existente.
- *Shave*: se eliminan marcadores de un locus.
- *Shift*: se corre la posición del locus.

La probabilidad de que ocurra cada uno de los movimientos varía. Por ejemplo, la probabilidad de incrementar el número de loci aumenta si el número existente es bajo y viceversa, la probabilidad de que un locus sea eliminado es mayor cuanto menor sea la heredabilidad asociada.

### Simulación

Se utilizaron los genotipos simulados correspondientes a 5 Mb presentados en (Lin et al., 2004), y que consisten en diversas poblaciones de entre 1500 y 3000 individuos, con 500 SNPs genotipados por individuo. Elejimos diversas formas para simular el fenotipo asociado a cada individuo. En todos los casos, se eligieron dos SNPs al azar entre las posiciones 1 y 20, y 480 y 500, uno por cada intervalo. Las situaciones fueron:

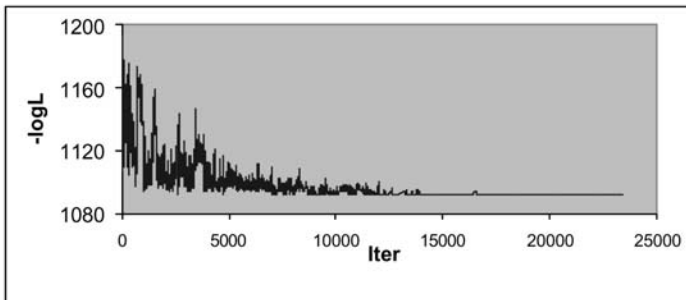
- Fenotipo continuo, no interacción: se simularon dos loci con efecto aditivo.
- Fenotipo continuo, epistasia decreciente: se simularon dos loci con epistasia decreciente (Crow and Kimura, 1970), tabla 4.1.3a.
- Fenotipo continuo, no interacción: se simularon dos loci con epistasia adaptativa (Carlborg and Haley, 2004).

- Fenotipo binario, no interacción. Se simuló un fenotipo como en el primer caso y, aplicando un umbral, se clasificaron los fenotipos en 1 y 2 de forma que el 50% fueran de cada tipo, aproximadamente.

Los valores asignados a cada genotipo se hicieron de forma que fueran el mismo a cada SNP y que la heredabilidad del carácter fuera 0.3 en todos los casos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados iniciales son muy prometedores y se presentarán en la comunicación. A pesar de que el método está diseñado para caracteres continuos, en todos los casos analizados se identificaron los SNPs causales. La Figura 1 muestra cómo el AIC disminuye a medida que el programa avanza. También se discutirán las ventajas y limitaciones de este método.



### Agradecimientos

Gracias a Jesús Fernández por educarme en el 'simulated annealing' y a Dave Cutler por los datos simulados y el programa hap2. Trabajo financiado por el MEC, proyecto AGL2004-00103.

## REFERENCIAS

- Carlborg, O., and C. S. Haley. 2004. Epistasis: Too often neglected in complex trait studies? *Nat Rev Genet* 5: 618-625.
- Crow, J. F., and M. Kimura. 1970. *An introduction to population genetics theory*. Harper & Row, New York.
- Kirkpatrick, S., C. D. J. Gerlatt, and M. P. Vecchi. 1983. Optimization by simulated annealing. *Science* 220: 671-680.
- Lin, S., A. Chakravarti, and D. J. Cutler. 2004. Exhaustive allelic transmission disequilibrium tests as a new approach to genome-wide association studies. *Nat Genet*.
- Nelson, M. R., S. L. Kardia, R. E. Ferrell, and C. F. Sing. 2001. A combinatorial partitioning method to identify multilocus genotypic partitions that predict quantitative trait variation. *Genome Res* 11: 458-470.
- Pérez-Enciso, M., and I. Misztal. 2004. Qxpak: A versatile mixed model application for genetical genomics and qtl analyses. *Bioinformatics* 20: 2792-2798.
- Pociot, F., A. E. Karlsen, C. B. Pedersen, M. Aalund, and J. Nerup. 2004. Novel analytical methods applied to type 1 diabetes genome-scan data. *Am J Hum Genet* 74: 647-660.
- Ritchie, M. D. et al. 2001. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer. *Am J Hum Genet* 69: 138-147.

## EFICIENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE MARCADORES EN PROGRAMAS DE CONSERVACIÓN

Jesús Fernández<sup>1</sup>, Beatriz Villanueva<sup>2</sup>, Ricardo Pong-Wong<sup>3</sup>, Miguel Ángel Toro<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid  
<sup>2</sup>Sustainable Livestock Systems Group, Scottish Agricultural College. Edimburgo.  
<sup>3</sup>Genetics and Genomics. Roslin Institute (Edinburgh). Roslin.

[jmj@inia.es](mailto:jmj@inia.es)

### INTRODUCCIÓN

Habitualmente, los objetivos principales en un programa de conservación son mantener niveles altos de variabilidad genética y minimizar el incremento de la consanguinidad. Con apareamiento aleatorio tanto la pérdida de información genética (alelos) en poblaciones pequeñas como el aumento de la consanguinidad dependen de la deriva genética de dicha población, por lo que cualquier estrategia que minimice el efecto de la deriva será eficiente en el control simultáneo de la variabilidad genética y la consanguinidad.

Cuando sólo se dispone de las relaciones genealógicas, se ha demostrado que la mejor manera de controlar el incremento en consanguinidad es determinar el conjunto de contribuciones que minimiza el parentesco global de los padres ponderado por dichas contribuciones (ver, por ejemplo, Fernández y col. 2003). Puesto que actualmente existe una creciente disponibilidad de marcadores moleculares, se ha sugerido su uso para sustituir o complementar la información genealógica a través del cálculo del parentesco molecular o el parentesco condicional a los marcadores, respectivamente (Toro y col 1999, Wang 2001).

El objetivo del presente estudio es evaluar la eficiencia para el mantenimiento de la diversidad genética y el control de la consanguinidad del uso de la información molecular y genealógica en poblaciones de conservación, cuando ambas fuentes de información (por separado o en combinación) se tienen en cuenta para optimizar las contribuciones de los reproductores a la siguiente generación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se simularon poblaciones compuestas por  $s = 9$  machos y  $d = 9$  hembras. El genoma de los individuos constaba de  $c = 1$  o 20 cromosomas de 1 Morgan de longitud, con 100 loci (completamente polimórficos en la población base) distribuidos homogéneamente. Adicionalmente, se simularon  $m = 1, 5$  y 10 loci marcadores por cromosoma. El número de alelos por marcador fue  $a = 2$  y 10 para todos los marcadores, asignándose aleatoriamente en la población base. Cada simulación se replicó 50 o 100 veces (dependiendo del tamaño del genoma) y se calcularon los valores de diversidad génica (DG, heterocigosidad esperada) y consanguinidad ( $F$ ) a partir de los datos de todos los loci no marcadores, promediando entre réplicas en cada una de las 10 generaciones. El censo efectivo ( $N_e$ ) se calculó a partir del promedio de  $\Delta F$  entre las generaciones 5 y 10.

El método de manejo simulado fue la minimización del parentesco promedio, usando en cada caso la matriz de parentescos genealógicos ( $f_P$ ), la molecular ( $f_M$ ) o la condicional a los marcadores ( $f_{PM}$ ), respectivamente. Como puntos de comparación, se pasaron casos en los que la contribución era aleatoria (R) y otros



en el que el parentesco se calculaba a partir del genotipo para los 100 loci no marcadores ( $f_G$ ).

Se consideraron dos situaciones: (i) las decisiones se tomaban basadas en la información de los padres potenciales y sólo se generaban el número exacto de hijos que se iban a mantener (PG); (ii) cada apareamiento generaba cuatro hijos que son genotipados para los marcadores y se decide cuáles de ellos mantener usando esa información (HG).

## RESULTADOS

Las Tablas 1 y 2 muestran los resultados para DG y Ne cuando las decisiones se toman basadas en los datos de los parentales (PG) o en la de varios hijos por reproductor (HG; cuatro hijos como promedio). Los datos de dichas tablas corresponden a poblaciones de  $s = d = 9$  inicialmente no emparentados, pero los resultados en otros escenarios son similares y por ello no se presentan. El censo efectivo en los casos en los que no se usa información genealógica, no aparece porque, en estas situaciones, el parámetro no alcanza un valor asintótico, sino que va aumentando según aumentan las generaciones.

**Tabla 1.** Heterocigosidad esperada ( $GD$ , en %) en la generación 10 y censo efectivo ( $Ne$ ), cuando las decisiones se basan en la información de los reproductores. Significado de las abreviaturas en el texto.

	$c$	$a$	$R$	$f_P$	$f_G$	$f_M$			$f_{PM}$		
						$m = 1$	$m = 5$	$m = 10$	$m = 1$	$m = 5$	$m = 10$
<b>GD</b>	1	2	73.93	84.09	87.22	71.72	69.53	68.51	84.01	84.91	85.09
		10				73.99	82.75	84.45	84.44	86.58	86.84
	20	2			84.09	68.08	77.97	80.39	84.00	83.98	84.00
		10				80.28	83.24	83.76	84.02	83.99	84.12
<b>Ne</b>	1	2	18.61	35.67					33.14	39.10	49.97
		10							41.66	45.14	56.49
	20	2							35.27	34.94	35.66
		10							34.03	34.87	34.15

**Tabla 2.** Heterocigosidad esperada ( $GD$ , en %) en la generación 10 y censo efectivo ( $Ne$ ), cuando las decisiones se basan en la información de cuatro hijos por reproductor (como promedio). Significado de las abreviaturas en el texto.

	$c$	$a$	$R$	$f_P$	$f_G$	$f_M$			$f_{PM}$		
						$m = 1$	$m = 5$	$m = 10$	$m = 1$	$m = 5$	$m = 10$
<b>GD</b>	1	2	73.93	84.09	95.11	74.90	74.04	76.45	84.82	88.67	90.46
		10				78.12	87.84	90.35	87.75	91.82	92.71
	20	2			86.46	74.99	81.89	83.15	83.52	84.26	84.82
		10				83.35	85.27	85.72	84.17	85.55	85.94
<b>Ne</b>	1	2	18.61	35.67					38.02	48.69	69.31
		10							45.01	103.31	181.83
	20	2							33.57	33.37	39.91
		10							36.03	44.28	47.19

La efectividad del parentesco genealógico ( $f_P$ ) a corto y medio plazo se hace evidente en los valores de  $GD$  mantenidos, que son muy próximos a los máximos

posibles (representados por  $f_G$ ), especialmente para genomas grandes y cuando no se pueden evaluar más individuos de los que se van a mantener.

Cuando sólo se usa información molecular ( $f_M$ ), el número de marcadores necesario para alcanzar los mismos niveles de  $GD$  que sólo con información genealógica ( $f_P$ ) es muy alto, aunque éste disminuye con la posibilidad de evaluar a los hijos.

La inclusión de información molecular en la estrategia de manejo, a través del parentesco condicional ( $f_{PM}$ ), apenas produce ganancia extra, con respecto a usar exclusivamente la genealogía, cuando sólo tenemos información de los padres (Tabla 1). Sin embargo, para genomas pequeños y usando información de los hijos, se observan aumentos importantes de  $N_e$  (y, por tanto, mejor comportamiento a largo plazo) cuando se combinan los dos tipos de información, en consonancia con los resultados de Toro y col. (1999) y Wang (2001). De cualquier manera, para genomas grandes ( $c = 20$ ) los valores de  $N_e$  obtenidos con  $f_{PM}$  no son significativamente diferentes de aquellos obtenidos con  $f_P$  con una información molecular escasa (por ejemplo  $a = 2$  y  $m = 1$  o 5; Tabla 2).

## DISCUSIÓN

Se ha estudiado la eficacia de usar la información genealógica y la molecular (conjuntamente o por separado) para el control de la diversidad genética y la consanguinidad en una población en conservación por medio de simulación en computador. Como conclusión general, se podría sugerir a los gestores de programas de conservación que evaluaran críticamente la conveniencia de incluir información molecular en sus políticas de manejo, excepto para tareas más específicas como el control de paternidad o la resolución de incertidumbres en la genealogía, dado que los costes de estas técnicas son todavía muy elevados y el número de marcadores disponibles puede no ser muy abundante excepto para especies domésticas.

Los resultados del presente estudio sugieren que, para especies poco prolíficas y, por tanto, basando las decisiones solamente en datos de los reproductores, sería más eficiente usar información genealógica, si tal información está disponible. Cuando más hijos de los necesarios se pueden generar y genotipar, la ventaja de usar información molecular puede ser mayor, especialmente en combinación con los datos genealógicos en especies con genomas pequeños. Sin embargo, en situaciones realistas (especies con genomas grandes y un número limitado de marcadores abordable), probablemente sería más eficiente destinar los recursos disponibles a aumentar el censo o a realizar un registro de la genealogía fiable, dejando el uso de marcadores. De cualquier manera, estas consideraciones deben ser estudiadas para cada caso en particular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernández, J., Toro, M. A., Caballero, A. 2003. *Genetics* **165**: 885-894.  
Toro, M. A., Silió, L., Rodríguez, M. C., Rodríguez, J., Fernández, J. *Genetics Selection Evolution* **31**: 255-261.  
Wang, J., 2001. *Genetics* **157**: 867-874.

## HABLEMOS DE SEXOS

M. A. Toro, A. Fernández, L. A. García-Cortés, J. Rodríguez y L. Silió  
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, 28040 Madrid

### INTRODUCCION

Debido a su relevancia en estudios evolutivos y al interés por sus posibles aplicaciones en animales domésticos, existe una ingente bibliografía sobre factores genéticos y ambientales que pudieran influir en el cociente sexual, definido como la proporción de machos en la descendencia de un apareamiento. La interpretación adaptativa de dicho cociente se inició con Fisher (1930), quien propuso que en una población con cociente sexual sesgado la selección favorecería la descendencia del sexo menos representado porque tendría ventaja en el apareamiento. En el campo de la mejora genética, la posible selección para aumentar la proporción del sexo más productivo (hembras, en el caso de gallinas de puesta y vacuno de leche o machos, en el caso de animales de carne) tendría un indudable interés económico.

La acción de la selección, tanto natural como artificial, requiere la existencia de variabilidad genética para el cociente sexual. En un sistema de determinación sexual de tipo cromosómico, el cociente sexual puede ser una simple consecuencia del comportamiento meiótico de los cromosomas, no modificable por selección y sin ningún valor adaptativo. Para que exista variabilidad genética se requiere, en primer lugar, que exista variabilidad fenotípica, y conviene enfatizar la dificultad estadística para corregir por la varianza binomial inherente a la segregación. De acuerdo con los estudios de simulación de Dobao et al. (1982), si la verdadera desviación típica entre padres fuera de 0.015 se necesitarían 160 familias de tamaño 500 o 60 de tamaño 1000 para detectarla con una probabilidad de 0.95 con los métodos estadísticos entonces disponibles (Robertson y Lerner, 1949; Robertson, 1951).

Uno de los factores ambientales que pudieran influir en el cociente sexual es la edad de los padres, bien la edad del padre o de la madre. Esta última idea se relaciona con la hipótesis de Trivers y Willard (1973) de que, en vertebrados el beneficio de la inversión materna es, en términos de eficacia biológica, superior si se dedica a los machos que a las hembras. De aquí se predice que las madres en baja condición fisiológica tenderán a producir hijas, mientras que las madres en buena condición tenderán a producir hijos. Por lo tanto si la condición corporal se altera con la edad materna, cabría esperar los correspondientes cambios en el cociente sexual en función de la edad o del ordinal de parto de la madre.

En un estudio previo, Dobao et al (1982) analizaron 64 807 lechones de cerdo ibérico y concluyeron que la varianza binomial era la fuente principal de variabilidad. También encontraron que la regresión del cociente sexual sobre la edad de la madre no fue significativa. En el presente trabajo reanalizamos parte de estos datos junto a otros más recientes, utilizando además de la metodologías clásicas, otras más sofisticadas basadas en un análisis bayesiano del modelo animal, tanto para caracteres continuos como para caracteres umbrales.

### MATERIAL, MÉTODOS y RESULTADOS

#### *Material*

Se ha analizado el cociente sexual de 56.807 lechones, nacidos entre 1964 y 2004 en 6.775 camadas de la estirpe de cerdos ibéricos Torbiscal, procedentes de

550 verracos y 1.893 madres. El cociente sexual total, determinado sobre lechones nacidos vivos y mortinatos, fue ligeramente favorable para los machos: 0.519.

#### *Análisis de heterogeneidad*

Entre padres. La varianza del cociente sexual entre las descendencias de los machos es una medida de la varianza fenotípica y por tanto indica el límite máximo que puede alcanzar la varianza genética. Hay dos formas que se han utilizado desde antiguo para estimar esta varianza: una basada en el  $\chi^2$  de heterogeneidad (Robertson y Lerner, 1949) y otro de máxima verosimilitud simplificada (SML) desarrollado por Robertson (1951). Este último consiste en calcular el estadístico  $\Sigma K / \Sigma I$  que se distribuye normalmente con media cero y varianza  $1 / \Sigma I$  siendo

$$K = \frac{1}{2} \left[ \frac{f_i(f_i - 1)}{(1 - p)^2} + \frac{m_i(m_i - 1)}{p^2} - \frac{2m_i f_i}{p(1 - p)} \right] \quad \Sigma I = \frac{\Sigma n_i(n_i - 1)}{2p^2(1 - p)^2}$$

En nuestro caso el número de descendientes de verracos fluctuó entre 1 y 928 y el de cociente sexual entre 0 y 0.526. El valor del  $\chi^2$  de heterogeneidad para los 524 machos con un número de descendientes superior a 20 fue de 605.67 ( $P < 0.007$ ), aunque la significación desaparece si sólo se consideran las 336 descendencias superiores a 40 ( $\chi^2 = 366.25$ ,  $P < 0.116$ ). Los valores del estadístico  $\Sigma K / \Sigma I$  y de su desviación típica fueron de  $1.1 \times 10^{-4}$  y  $0.9 \times 10^{-4}$  que corresponden a una  $P < 0.115$ .

Entre edades. Las edades de los verracos en trimestres se agruparon en 13 clases, con observaciones muy desequilibradas (entre 61 y 12.586) y un amplio rango de cocientes sexuales (entre 0.46 y 0.64). No se observa ninguna tendencia del cociente sexual en función de la edad del verraco y tanto el análisis  $\chi^2$  (15.63,  $P < 0.209$ ), como el método SML ( $\Sigma K / \Sigma I = -0.6 \times 10^{-6}$ ,  $\sqrt{1 / \Sigma I} = 1.6 \times 10^{-5}$ ,  $P < 0.484$ ) no detectan heterogeneidad de los datos. Las edades de las madres en trimestres se agruparon en 17 clases, con un rango de 24 a 9.449 para las observaciones, y de 0.44 a 0.54 para el cociente sexual. Tampoco se observó heterogeneidad ni en el análisis  $\chi^2$  (13.62;  $P < 0.627$ ), ni en el SML ( $\Sigma K / \Sigma I = -0.1 \times 10^{-4}$ ,  $\sqrt{1 / \Sigma I} = 1.8 \times 10^{-5}$ ,  $P < 0.758$ ).

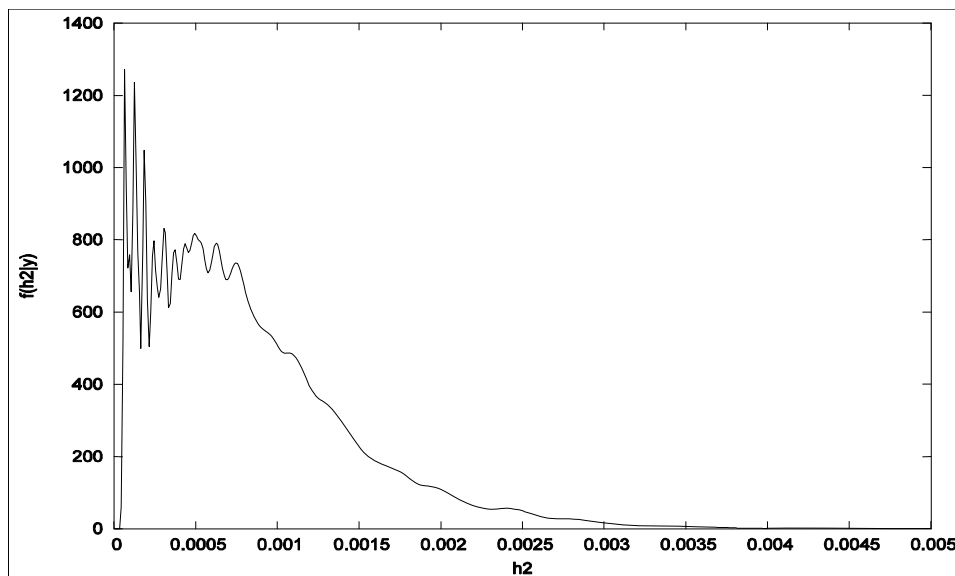
#### *Análisis bayesiano con el modelo animal.*

El modelo ajustado fue un modelo con medidas repetidas (1 = hijo macho, 0 = hija hembra) para cada verraco, junto con el efecto correspondiente a la edad del verraco. Las distribuciones a priori fueron planas para todas los parámetros y las posteriores se obtuvieron mediante muestreo de Gibbs. La media y la desviación típica de la distribución posterior de la heredabilidad fueron  $3.0 \times 10^{-4}$  y  $3.3 \times 10^{-4}$  respectivamente). El efecto de la edad del verraco tampoco fue significativo.

También se ajustó un modelo en que la edad del verraco se sustituyó por la edad de la madre. La media de la heredabilidad fue  $2.9 \times 10^{-4}$  (desviación típica,  $3.1 \times 10^{-4}$ ).

#### *Análisis bayesiano con el modelo umbral.*

Los dos análisis anteriores se repitieron utilizando el modelo umbral en el que se asume una variable subyacente distribuida normalmente, existiendo un valor umbral diferente para cada verraco que determina la probabilidad de que el descendiente producido sea macho o hembra. En la figura se representa la distribución a posteriori de la varianza aditiva en la escala subyacente. El análisis bayesiano permite asignar un valor a la probabilidad de que la heredabilidad sea cero (condicionada en los datos), que resultó ser de 0.9998.



## CONCLUSIÓN

La literatura sobre variabilidad genética del cociente sexual en vacuno lechero, cerdos, gallinas, ratones, conejos, ovejas y visones fue revisada por Hohenboken (1981) y Toro (1986). La conclusión general es que los datos pueden explicarse a partir de la simple segregación mendeliana de los cromosomas X e Y. Lo mismo cabe concluir del presente estudio realizado con métodos estadísticos más refinados, que amplía otro preliminar basado en datos parcialmente diferentes y analizados con una metodología más tradicional (Dobao et al. 1982). Aunque suele afirmarse que todo carácter cuantitativo tiene un componente heredable, el cociente sexual es un llamativo caso de heredabilidad nula. Tampoco hemos detectado efectos sobre el cociente sexual ni de la edad del padre ni de la de la madre. Meikle et al. (1996) tampoco encontraron relación entre el cociente sexual y la edad de la madre, pese de que las hembras dominantes produjeron una proporción significativamente mayor de machos que las hembras subordinadas.

Las hipótesis sobre el cociente sexual seguirán siendo objeto de discusión, pero su manipulación práctica, al menos en cerdos, no es factible mediante selección y requiere el empleo de las aún costosas técnicas de reproducción asistida.

## REFERENCIAS

- Dobao, M.T., Rodríguez, J., Silió, L., Toro, M.A. 1982. *2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, **8**: 537-542.
- Fisher, R.A. 1930. *The genetical theory of natural selection*. Oxford University Press.
- Meikle, D.B., Drickamer, L.C., Vessey, S.H., Arthur, R.D., Rosenthal, T.L. 1996. *Ethology* **102**: 969-978.
- Toro, M.A. 1986. *La sociedad naturalizada: genética y conducta*. Tirant lo Blanc, Valencia, pp. 185-205.
- Trivers, R.L., Willard, D.E. 1973. *Science* **179**: 90-92.
- Robertson, A., Lerner, I.M. 1949. *Genetics* **34**: 395-411.
- Robertson, A. 1951. *Annals of Eugenics*. **16**: 1-15.

## **ASIMETRÍA FLUCTUANTE EN CARACTERES SEXUALES SECUNDARIOS: RELACIÓN CON INDICADORES DE ESTRÉS EN GALLOS DE VARIAS RAZAS**

J.L. Campo, M.G. Gil, S.G Dávila y I. Muñoz

Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

### **INTRODUCCIÓN**

La asimetría fluctuante (FA) se considera un indicador válido del estrés genético y ambiental. A diferencia de la asimetría direccional (DA) o de la antisimetría (AS), se caracteriza por pequeñas desviaciones aleatorias de la simetría en caracteres bilaterales, estando las diferencias entre medidas del lado izquierdo y derecho distribuidas normalmente con un valor medio igual a cero (Moller y Swaddle, 1997: *Asymmetry, Developmental Stability, and Evolution*, Oxford Univ. Press). FA era mayor en aves criadas con alta densidad de población (Moller y col., 1995: *Poult. Sci.* 74, 1761) o con luz continua (Moller y col., 1999: *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62, 57). Yang y col. (1997: *Poult. Sci.* 76, 1632) y Yang y Siegel (1998: *J. Anim. Breed. Genet.* 115, 105) encontraron que la FA del cruce de líneas era menor que la de las líneas parentales. Campo y col. (2000: *Poult. Sci.* 79, 453) sugirieron que la FA de varios caracteres morfológicos no era un indicador general de los niveles de estrés en aves. Los caracteres sexuales secundarios, que no requieren una simetría estricta para funcionar correctamente, pueden ser firmes candidatos a utilizar la FA como indicador del estrés. Este trabajo estudia la asociación entre la FA para superficies de barbilla, orejilla y triángulo del ala, el cociente de leucocitos y la duración de la inmovilidad muscular, en gallos de tres razas diferentes.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron dos razas españolas (Andaluza Aperdizada y Villafranquina Roja) y la línea e<sup>y</sup>, mantenidas en el programa de conservación del departamento de Mejora Genética Animal en El Encín. Los gallos de las tres poblaciones tienen plumaje rojo de pecho negro, con feomelaninas bien diferenciadas en el triángulo del ala. Se usaron 292 gallos (118, 116 y 58 de cada raza) para la medida de tres caracteres bilaterales a la edad de 18 meses: superficie de barbilla, superficie de orejilla y superficie del triángulo del ala. Todos los caracteres tenían una distribución normal. La FA de un carácter se definía como el valor absoluto de la diferencia entre el lado izquierdo y el lado derecho ( $|L - R|$ ). Antes del análisis se estudiaba la distribución de  $(L - R)$  para detectar la presencia de DA (distribución normal con media distinta de cero) o AS (distribución no normal con media igual a cero), usando la prueba *t* y la de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó la asimetría relativa  $[2|L - R|/(L + R)]$  para eliminar la dependencia significativa con la media del carácter. La consistencia de ambas medidas y de  $(L - R)$  se comprobó midiendo tres veces en tres días diferentes 20 gallos de la Andaluza Aperdizada. Las diferencias entre razas se analizaron con un ANOVA jerárquico y la prueba múltiple de Student-Newman-Keuls, utilizando la transformación arco-seno raíz cuadrada en la FA relativa antes del análisis. La duración de la inmovilidad muscular (entre 0 y 600 segundos) se determinó por el método de Jones y

Faure (1981: *Behav. Proc.* 6, 47). El número máximo de intentos para inducir la inmovilidad muscular se limitó a tres. El cociente de leucocitos se determinó por el método de Lucas y Jamroz (1961: *Atlas of Avian Hematology*, USDA), contando un total de 100 leucocitos, incluyendo los granulares (heterófilos, eosinófilos y basófilos) y los no granulares (linfocitos y monocitos). La transformación logarítmica (duración de la inmovilidad muscular) y la raíz cuadrada (cociente de leucocitos) se hicieron antes de calcular los coeficientes de correlación con la FA relativa.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Había diferencias significativas entre razas para cada uno de los tres caracteres analizados (Tabla 1). Las barbillas y orejillas de la raza Villafranquina (de mayor peso corporal) eran menores que las de las otras dos razas (de menor peso). La diferencia entre lados se distribuía normalmente con media cero (FA) para el área de barbilla en una raza y para el área del triángulo del ala en dos razas. La distribución era no normal con media cero (AS) para el área de orejilla en estas dos últimas razas, y en los casos restantes la distribución era normal con media distinta de cero (DA). Este último resultado es consistente con el hecho de que las estructuras relacionadas con caracteres sexuales secundarios no requieren una simetría estricta. Las dos razas ligeras tenían el mismo tipo de asimetría en los tres caracteres, y siempre diferente a la encontrada en la Villafranquina. No hubo diferencias significativas entre razas para la asimetría relativa en ningún carácter. El grado de asimetría relativa variaba significativamente entre caracteres: barbilla ( $13,75 \pm 0,73$ ), orejilla ( $17,49 \pm 1,01$ ), y triángulo del ala ( $23,01 \pm 1,16$ ), sugiriendo la conveniencia de una asimetría relativa media como indicador del estrés. La asimetría relativa media de los tres caracteres difería significativamente en la Villafranquina ( $19,90 \pm 1,17$ ) y  $e^y$  ( $15,72 \pm 1,16$ ), mientras que en la Andaluza era intermedia ( $17,45 \pm 0,93$ ). Los elevados niveles de asimetría relativa encontrados en los tres caracteres sexuales secundarios concuerdan con los resultados de Moller (1990: *Anim. Behav.* 40, 1185) y Moller (1992: *Pro. Roy. Soc. London B* 248, 199). Como comparación, el nivel de asimetría relativa encontrado por Campo y col. (1990) para varios caracteres morfológicos variaba entre 3,72 y 5,43%.

Había diferencias significativas entre razas para los dos indicadores de estrés (cociente de leucocitos y duración de la inmovilidad muscular). La correlación entre cociente de leucocitos y duración de la inmovilidad muscular ( $-0,09$ ) no difería significativamente de cero, en discordancia con los valores encontrados por Campo y Redondo (1996: *Poult. Sci.* 75, 155) y Campo y col. (2000) que oscilaban entre  $-0,28$  y  $-0,64$ . La correlación entre asimetría relativa e indicadores de estrés no fue significativa en general, excepto para asimetría relativa del área de barbilla e inmovilidad muscular en la Villafranquina ( $-0,32^{**}$ ). Los resultados eran bastante similares cuando se utilizaban otros indicadores de la FA. Por ejemplo, el valor  $(L^2 + R^2) - 0,5(L + R)^2$  para área de barbilla tenía una correlación significativa ( $-0,30^{**}$ ) con la inmovilidad muscular en la raza Villafranquina, aunque en este caso también era significativa la correlación entre la FA para área de orejilla y duración de la inmovilidad muscular ( $-0,26^{**}$ ) en la Andaluza. De este modo, el valor de la asimetría relativa de caracteres sexuales secundarios como indicador del estrés parece reducirse a ciertos caracteres y

poblaciones, especialmente en condiciones en las que no existe un nivel elevado de estrés.

**TABLA 1.** Valores medios para la asimetría bilateral de tres caracteres sexuales secundarios en gallos de tres razas diferentes (FA = asimetría fluctuante; DA = asimetría direccional; AS = antisimetría), el cociente de leucocitos y la duración de la inmovilidad muscular

Carácter <sup>1</sup>	Andaluza Aperdizada	Villafranca Roja	Línea e'
Area barbilla (cm <sup>2</sup> )			
(L + R)/2	22,49 ± 0,65 <sup>a</sup>	15,59 ± 0,46 <sup>b</sup>	20,72 ± 0,62 <sup>a</sup>
L - R	-1,12 ± 0,34 DA	-0,32 ± 0,27 FA	-0,96 ± 0,37 DA
L - R	2,91 ± 0,24	2,23 ± 0,18	2,25 ± 0,24
2 L - R /(L + R) x 100	13,78 ± 1,12 <sup>a</sup>	14,90 ± 1,19 <sup>a</sup>	11,13 ± 1,31 <sup>a</sup>
Area orejilla (cm <sup>2</sup> )			
(L + R)/2	5,40 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,11 <sup>b</sup>	5,03 ± 0,16 <sup>a</sup>
L - R	-0,14 ± 0,13 AS	-0,32 ± 0,13 DA	-0,27 ± 0,15 AS
L - R	0,91 ± 0,10	0,90 ± 0,10	0,80 ± 0,11
2 L - R /(L + R) x 100	16,66 ± 1,54 <sup>a</sup>	19,50 ± 1,77 <sup>a</sup>	15,01 ± 1,71 <sup>a</sup>
Area triángulo del ala (cm <sup>2</sup> )			
(L + R)/2	57,18 ± 2,34 <sup>b</sup>	58,18 ± 2,10 <sup>b</sup>	64,49 ± 3,67 <sup>a</sup>
L - R	-0,76 ± 1,41 FA	-6,20 ± 1,96 DA	0,24 ± 2,33 FA
L - R	11,75 ± 0,89	14,44 ± 1,36	12,61 ± 1,55
2 L - R /(L + R) x 100	22,04 ± 1,61 <sup>a</sup>	25,45 ± 2,25 <sup>a</sup>	21,18 ± 2,34 <sup>a</sup>
Heterófilos:linfocitos	0,48 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,40 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,55 ± 0,02 <sup>a</sup>
Inmovilidad muscular (s)	289 ± 9 <sup>ab</sup>	310 ± 20 <sup>a</sup>	230 ± 27 <sup>b</sup>

<sup>a b c</sup> Valores medios dentro de la misma fila con distinto superíndice difieren (P < 0.05)

<sup>1</sup> L = lado izquierdo; R = lado derecho



## **ESTUDIO INTEGRAL DEL CARÁCTER FACILIDAD DE PARTO EN GANADO VACUNO FRISON DE LA CAPV**

López de Maturana, E.; Legarra, A.; Ugarte, E.  
NEIKER, Instituto Vasco de Investigación Agraria. Apdo. 46, 01080, Vitoria, Spain

### **INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, debido al sistema de cuotas y a la depreciación de la leche, la eficiencia económica del ganado vacuno de leche debe ser mejorada realizando un mayor énfasis en los denominados caracteres funcionales o secundarios (Essl, 1998), que actúan sobre el sistema de producción reduciendo los costes (p. e., la facilidad de parto, la fertilidad o la adaptabilidad al ordeño). Una característica general de estos caracteres funcionales es que están correlacionados genéticamente de forma negativa con la producción de leche (Simianer *et al*, 1991). Este hecho indica que la selección hacia niveles de producción más elevados provoca un deterioro de dichos caracteres, afectando de manera considerable al bienestar animal. Además, los consumidores quieren productos animales que procedan de animales sanos a los que no se les haya administrado medicamentos o en caso de ser necesaria su administración, se haya hecho de forma controlada (Simianer *et al*, 1991). Esta preocupación por el bienestar animal puede disminuir el consumo de productos derivados de este sistema de producción a no ser que la industria muestre un interés real de mejorar los caracteres funcionales (Groen *et al*, 1997).

El carácter facilidad de parto (FP) afecta directamente a la rentabilidad de los rebaños provocando costes adicionales (Dematawewa y Berger, 1997). Este carácter tiene la peculiaridad de ser un carácter de naturaleza categórica (Gianola y Foulley, 1983) que además se ve afectado tanto por efectos genéticos directos como maternos (Cue y Hayes, 1985). Un carácter umbral o categórico se define como aquel carácter que no varía de forma continua y que no se hereda de acuerdo a los principios mendelianos simples (Gianola, 1982). La clave para entender la herencia de estos caracteres la dio Wright (1934), en un estudio de un carácter dicotómico, al considerar que dicha dicotomía era el resultado de la superación o no de un umbral fisiológico, asumiendo la existencia de una escala continua subyacente bajo dicho umbral. En el caso particular de la valoración genética del carácter FP en la CAPV, al considerarse 3 categorías de dificultad (López de Maturana *et al*, 2003), el número de umbrales a considerar será 2 ( $t_1$  y  $t_2$ ).

### **OBJETIVOS**

Los objetivos generales de la tesis se describen a continuación.

#### **1. Evaluación del sistema de valoración genética para el carácter facilidad de parto en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV).**

El objetivo es principalmente detectar a aquellos sementales que transmiten un grado elevado de dificultad al parto en su apareamiento con novillas en particular y en vacas que hayan tenido dificultades en partos anteriores en general.

En el caso de la CAPV, se encontraron tres puntos críticos en el sistema de valoración existente (López de Maturana *et al*, 2004):

1. Recogida y codificación del parto.
2. Metodología de la valoración genética, incluyendo los procesos para la obtención de un conjunto de datos fiables, el modelo de evaluación y la búsqueda de un software que estimara los parámetros genéticos.
3. Presentación de los resultados a los ganaderos de una manera más inteligible.

Actualmente, ya han sido estudiados los puntos críticos mencionados, modificándose en algunos aspectos el sistema de evaluación genética anterior, obteniendo como resultado valoraciones más precisas (López de Maturana *et al*, 2003, 2004). Así, el modelo de valoración utilizado es un modelo umbral macho con efectos maternos al que se le aplica una metodología bayesiana para su resolución (Sorensen *et al*, 1995).

#### **2. Estudio de las relaciones entre los caracteres de fertilidad y facilidad de parto.**

El propósito de este apartado es doble:

- Estudiar la influencia de un parto distócico sobre la fertilidad de la hembra en el siguiente ciclo reproductivo.
- Analizar las correlaciones genéticas entre los caracteres de fertilidad y el carácter FP.

Las medidas de fertilidad que se consideraron en este estudio fueron: el intervalo parto-primer inseminación (IPPIA), el intervalo parto-concepción (IPC), el número de inseminaciones (NINSE) y el resultado de la primera inseminación (RESUL), siendo todas ellas de naturaleza lineal, excepto el carácter RESUL, de naturaleza categórica (fallo/éxito), al que se le aplicó una metodología umbral.

Respecto al primer apartado, se han realizado 5 análisis de modelos macho bicarácter, tomados los caracteres dos a dos. En todos los análisis se consideró el efecto distocia como efecto fijo, aplicándose para su resolución metodología bayesiana mediante muestreo de Gibbs, unida a la técnica de aumento de datos (Albert y Chib, 1993).

Los resultados obtenidos muestran que, tomando como referencia el grado de distocia 1, este efecto únicamente resultó significativo ( $p < 0,05$ ) sobre el IPC, suponiendo un incremento del mismo de 6 días cuando el grado de distocia es 2 y un incremento de 11 días cuando el grado de distocia es 3.

En cuanto al segundo objetivo de este apartado, se han obtenido resultados relativos a las correlaciones genéticas entre los caracteres de fertilidad IPPIA y RESUL y el carácter FP (ver tabla 1). La estimación de las correlaciones entre los caracteres de fertilidad IPC y NINSE y el carácter FP ha presentado problemas de convergencia de las cadenas.

**Tabla 1.- Correlaciones genéticas entre el efecto directo de los caracteres de fertilidad y los efectos directos y maternos del carácter FP.**

Parámetro	Media	Mediana	D. E.	IC 95%
$r_{\text{ippiafdirecto}}$	0,249	0,268	0,325	-0,358 a 0,838
$r_{\text{ippiafmaterno}}$	0,091	0,101	0,272	-0,473 a 0,608
$r_{\text{resulfdirecto}}$	-0,547	-0,603	0,298	-0,983 a 0,058
$r_{\text{resulfmaterno}}$	-0,029	-0,037	0,293	-0,596 a 0,578

A partir de los resultados obtenidos, se puede concluir que no existe una correlación genética significativamente diferente de 0 ni entre los efectos directos de los caracteres implicados, ni entre los efectos directos de los caracteres de fertilidad y el efecto materno de FP.

### **3. Análisis de la relación genética entre los caracteres facilidad de parto y algunos caracteres morfológicos de interés.**

El objetivo de este apartado es el estudio de la relación genética entre los caracteres de FP y determinados caracteres de tipo con el fin de poder utilizar dichos caracteres como predictores del carácter FP en novillas de reposición. Los caracteres de tipo que se han seleccionado han sido la estatura, la anchura de pecho, la anchura de grupa y la angulosidad de los isquiones.

Los datos utilizados para este análisis proceden únicamente de animales de primer parto. Se han analizado conjuntamente los caracteres de tipo y el carácter FP mediante la aplicación de un modelo de 5 caracteres. Se puede concluir que las correlaciones genéticas tanto entre los efectos directos como entre los efectos directos y maternos de los caracteres de tipo y FP son muy cercanas a 0. Este hecho es justificado por algunos autores por el hecho de que la selección por tipo es realizada desde hace tiempo por el ganadero, de manera que puede existir una reducción en las varianzas y covarianzas asociadas a estos caracteres (Robertson, 1977). También, es necesario considerar el hecho de que algunos de los caracteres de tipo tratados (p. e., anchura de grupa o colocación de los isquiones) tienen un óptimo intermedio.

### **4. Estudio de la importancia del carácter facilidad de parto en relación a la persistencia de un animal en el rebaño.**

El objetivo de este apartado es analizar la importancia del carácter FP sobre la persistencia de una vaca en el rebaño. El impacto calculado del empeoramiento de los

caracteres relacionados con la salud sobre la longevidad es bajo, comparándolo con el producido por una baja producción de leche y por unas malas características reproductivas. Sin embargo, es necesaria la realización de estudios que analicen el impacto relativo de los caracteres relativos a la salud (entre ellos, el carácter distocia) sobre la toma de decisiones en relación al desecho involuntario en diferentes partos (Beaudeau *et al*, 2000). En el proceso de toma de decisiones relativa al desecho de animales tiene una elevada importancia el efecto del rebaño, puesto que las características propias de cada rebaño modifican el riesgo de una vaca de ser eliminada debido un problema de salud determinado (Beaudeau *et al*, 2000). Para la realización de este análisis se aplicará un análisis de supervivencia con variables dependientes del tiempo, al ser la técnica más deseable para el análisis de decisiones correspondientes a la eliminación involuntaria de los animales en el rebaño (Beaudeau *et al*, 2000).

##### **5. Estudio económico de la importancia del carácter facilidad de parto a nivel de rebaño.**

El objetivo de este apartado es analizar en términos económicos la importancia que tiene un parto distócico (categoría 3) cuando ocurre en una explotación.

Los costes que puede producir un parto difícil son (Dematawewa y Berger, 1997; Albera *et al*, 1999):

- Costes veterinarios.
- Costes provocados por un aumento de la mano de obra.
- Costes derivados de un empeoramiento de la fertilidad.
- Costes producidos por una pérdida de producción.
- Costes provocados por un desecho temprano de la vaca.
- Costes derivados de la muerte del ternero.

Para realizar el cálculo de los costes anteriormente mencionados será necesario consultar y recopilar datos de explotaciones que se encuentren en el programa de gestión técnico- económica.

#### **AGRADECIMIENTOS**

E. López de Maturana agradece la concesión de la beca predoctoral otorgada por el Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco. A. Legarra agradece la financiación parcial de su trabajo por parte del INIA.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Albera, A., Carnier, P. y Groen, A. F. 1999. *Interbull Bulletin*, 23, 1-5.
- Albert, J. H. y Chib, S. 1993. *Journal of the American Statistical Association*, 88, 669-679.
- Beaudeau, F., Seegers, H., Ducrocq, V., Fourichon, C. y Bareille, N. 2000. *Ann. Zootech.*, 49, 293-311.
- Cue, R. I. y Hayes, J. F. 1985. *J. Dairy Sci.*, 68, 374-381.
- Dematawewa, C. M. B. y Berger, P. J. 1997. *J. Dairy Sci.*, 80, 754-761.
- Essl, A. 1998. *Livest. Prod. Sci.*, 57, 79-89.
- Gianola, D. 1982. *J. Anim. Sci.*, 54, 1079-1096.
- Gianola, D. y Foulley, J. L. 1983. *Genet. Sel. Evol.*, 15, 201-224.
- Groen, A. F., Steine, T., Colleau, J. J., Pedersen, J., Pribyl, J. y Reinsch, N. 1997. *Livest. Prod. Sci.*, 49, 1-21.
- López de Maturana, E., Ugarte, E. y Ugarte, C., 2003. X Jornadas sobre Producción Animal. ITEA, Volumen extra, nº 24. Tomo II., 564-566, Zaragoza.
- López de Maturana, E., Ugarte, E. y Ugarte, C. 2004. *Sustrai*, 67, 46-49.
- Robertson, A. 1977. *Z. Tierz. Zuechtungs-biol.*, 94, 131.
- Simianer, H., Solbu, H. y Schaeffer, L. R. 1991. *J. Dairy Sci.*, 74, 4358-4365.
- Sorensen, D. A., Andersen, S., Gianola, D. y Korsgaard, I. 1995. *Genet. Sel. Evol.*, 27, 229-249.
- Wright, S. 1934. *Genetics*, 19, 506-536.

## COMPARACIÓN BAYESIANA DE MODELOS PARA LA EVALUACIÓN DEL GANADO CAPRINO LECHERO DE LA RAZA MURCIANO- GRANADINA DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

Grimal A., Sellas S., Gómez E.A., Martínez-Navalón B<sup>1</sup>.

CITA-IVIA. Cra. Náquera-Moncada Km 4,5. 46113 Moncada Valencia

<sup>1</sup>AMURVAL. C/ Santísima Trinidad, 1. 46460 Silla. Valencia

### INTRODUCCIÓN

En la Comunidad Valenciana se está implantando un programa de mejora genética de cabras lecheras de raza Murciano-Granadina basado en la información obtenida a través de los controles lecheros oficiales y apoyado en un esquema de machos en testaje vía inseminación artificial, gestionado desde el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias y en colaboración con el programa nacional.

Se utilizan en la actualidad modelos mixtos para analizar los caracteres de producción de leche, porcentaje de grasa y porcentaje de proteína estandarizados según duración de lactación, con 7468 registros de lactaciones de 4098 cabras. Dado que no se dispone de las genealogías de los animales no se utiliza un modelo animal.

Para la evaluación productiva de los animales se está empleando un modelo mixto de repetibilidad, con hembra como efecto aleatorio y sin considerar las relaciones entre ellas, en el que se incluyen como efectos fijos el rebaño-año-estación, el número de crías y el orden de parto.

El objetivo del presente trabajo es comparar el modelo actual con modelos que incluyan además el efecto de la edad de la cabra al parto, el efecto del tiempo desde el parto hasta el primer control o ambos. La comparación entre modelos se realizará desde un enfoque Bayesiano.

### MATERIAL Y MÉTODOS

#### *Base de Datos*

Los datos utilizados pertenecen a la base de datos del Control Lechero Oficial de las explotaciones de la Comunidad Valenciana gestionados por AMURVAL entre los años 1999 y 2003 con registros de 7468 lactaciones procedentes de 4098 cabras. Los intervalos previstos entre controles son de 42 días con un único ordeño diario (método A6). En cada control, el controlador medía *in situ* la cantidad de leche (KL), mientras que el porcentaje de grasa (PG) y proteína (PP) se analizaron en un laboratorio profesional homologado. Los datos analizados en el presente trabajo corresponden a lactaciones estandarizadas con una duración de 150 días para cabras primíparas y de 210 días para las múltiparas; estimadas por el método Fleischmann. Sólo se consideraron como válidas las lactaciones con tres o más controles (ICAR, 2004).

#### *Modelos*

Se compararon 4 modelos, teniendo todos en común los efectos rebaño-año-estación (con 130 niveles, con un mínimo de 10 y un máximo de 193 datos por casilla), orden de parto (con 4 niveles según sean de 1º, 2º, 3º y 4º o siguientes) y el número de crías (con 5 niveles: 1 cría, 2 crías, 3 o más crías, aborto y dato desconocido). El *Modelo 1* sólo incluía estos tres efectos. El *Modelo 2* incluyó el efecto de la edad de la cabra al parto, con 16 niveles que se muestran en la **Tabla 1**, con cuatro niveles en cada uno de los partos en función de la edad, con aproximadamente un 25% de los datos en cada uno. El *Modelo 3* incluía el efecto

del tiempo transcurrido (en semanas) desde el parto hasta el primer control de la lactación con 10 niveles. Finalmente, el *Modelo 4* incluyó los dos efectos.

**Tabla 1.** Codificación efecto edad al parto en función del orden de parto y de la edad de la cabra

Orden parto	Niveles			
1	1 (25-58)	2 (59-67)	3 (68-78)	4 (79-285)
2	5 (50-103)	6 (104-114)	7 (115-128)	8 (129-185)
3	9 (83-150)	10 (151-167)	11 (168-184)	12 (185-329)
≥4	13 (74-217)	14 (218-253)	15 (254-297)	16 (298-493)

Entre paréntesis el intervalo de edad en semanas de la cabra en el momento del parto

### Inferencia Bayesiana

Recientemente, Spiegelhalter et al. (2002) introdujo el DIC (Deviance Information Criterion) como herramienta para la comparación de modelos, que difiere del AIC (Criterio de información de Akaike) en que en vez de utilizar criterios basados en máxima verosimilitud emplea un procedimiento basado en la media de la distribución posterior del logaritmo de la verosimilitud (Sorensen, 2004).

Para un modelo particular M, el DIC se define como:

$$DIC = 2\bar{D} - D(\bar{\theta}_M)$$

Donde:

$$\bar{D} = -2 \int [\log p(y|\theta_M)] p(\theta_M|y, M) d\theta_M = E_{\theta_M|y} [D(\theta_M)]$$

y

$$D(\theta_M) \approx -2 \log p(y|\bar{\theta}_M) - 2 \left[ \frac{\partial \log p(y|\theta_M)}{\partial \theta_M} \right]_{\theta_M = \bar{\theta}_M} \cdot (\theta_M - \bar{\theta}_M) - (\theta_M - \bar{\theta}_M) \left[ \frac{\partial^2 \log p(y|\theta_M)}{\partial \theta_M \partial \theta'_M} \right]_{\theta_M = \bar{\theta}_M} \cdot (\theta_M - \bar{\theta}_M)$$

El DIC presenta un primer término relacionado con la bondad de ajuste del modelo y un segundo término que introduce una penalización debida a la mayor complejidad del modelo, siendo ésta más severa que el Factor de Bayes posterior. Modelos con menor DIC son mejores, pues indican un mejor grado de ajuste y un menor grado de complejidad (Sorensen, 2004). El DIC tiene unidades logarítmicas y se acepta (arbitrariamente) que una diferencia mayor de 5 unidades es suficiente para decidir entre modelos.

El DIC se calcula fácilmente a partir de los resultados de los procedimientos MCMC (Monte-Carlo Markov Chains). El primer término del DIC se estima como dos veces la media de los valores simulados de  $-\log p(y|\theta_M)$ , y el segundo es la estima de la desviación usando la media de los valores de  $\theta_M$  simulados con MCMC. Para su cálculo, se ha empleado el programa FIXG, programado en FORTRAN y desarrollado por Mekawy et al. (2005) en la Universidad Politécnica de Valencia.

Para el análisis bayesiano, se han empleado *priors* planos para los diferentes efectos. Se asume que los datos se distribuyen normalmente. Las distribuciones marginales se estimaron mediante *Gibbs sampling*, con una cadena de 10.000 iteraciones con un periodo de quemado de 2.000.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ovino, varios programas de selección incluyen en sus modelos de evaluación los efectos de intervalo parto-1er control o edad al parto de la hembra (Ugarte et al., 2000). A nivel nacional y a nivel valenciano, sólo se incluyen los efectos de rebaño-año-estación, número de lactación y número de crías con un modelo de repetibilidad (Gómez et al., 2003) o un modelo animal (Jurado y Serrano, 2004).

En la **Tabla 2** se muestran los valores de DIC obtenidos para los 4 modelos analizados y para cada uno de los caracteres. Para las variables producción de leche y porcentaje de grasa, el modelo más favorable es el Modelo 2, que incluye el efecto de la edad de la cabra en el momento del parto. Si comparamos con el Modelo 4, dada su mayor complejidad por la inclusión del efecto tiempo transcurrido desde la lactación hasta el primer control, se ve penalizado por el segundo término del DIC, con lo que no sale favorecido. Sin embargo, para el carácter porcentaje de proteína, el modelo más favorable es el Modelo 4 en el que se incluyen todos los efectos considerados. En todos los casos las diferencias en los valores de DIC entre el Modelo 1 y los considerados como más favorables son mayores que 5. Por tanto, se recomienda incluir el efecto edad de la cabra en el momento del parto para la evaluación de los tres caracteres. Además, sería conveniente incluir el efecto tiempo transcurrido desde el parto hasta el primer control para el análisis del carácter porcentaje de proteína.

**Tabla 2.** Valores DIC para los diferentes modelos y caracteres.

	KL	PG	PP
Modelo 1	90723	16496	3967
Modelo 2	<b>90690</b>	<b>16487</b>	3931
Modelo 3	90714	16490	3934
Modelo 4	90696	16493	<b>3908</b>

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado gracias a la financiación de la Beca para Proyectos de Investigación de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana obtenida por A. Grimal y a la colaboración con la Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano-Granadina de la Comunidad Valenciana (AMURVAL), en el marco del proyecto de investigación INIA-RTA03-100.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blasco A., 2005. [www.dcam.upv.es/acteon/docs/T\\*PADOVA%202004.ppt](http://www.dcam.upv.es/acteon/docs/T*PADOVA%202004.ppt)
- ICAR, 2004. [www.icar.org/docs/Rules%20and%20regulations/New%20Guidelines/a\\_chapter02.pdf](http://www.icar.org/docs/Rules%20and%20regulations/New%20Guidelines/a_chapter02.pdf)
- Jurado J.J., Serrano M., 2004. Catálogo de reproductores. Esquema de selección genética de la raza Murciano-Granadina. I.N.I.A.
- Makkawy W., Ibáñez N., Varona L., Blasco A., 2005. Programa FIXG.
- Sellas S., 2004. Trabajo Final de Carrera. Universidad Politécnica de Valencia.
- Sorensen D., 2004. <http://www.dcam.upv.es/acteon/docs/modselmaster.pdf>
- Spiegelhalter D.J., Best N.G., Carlin B.P., van der Linde A., 2002. J. Royal Stat. Soc., B 64: 583-639.
- Ugarte E., Serrano M., de la Fuente L.F., Pérez-Guzmán M.D., Alfonso L., Gutierrez J.P., 2002. XI Jornadas Nacionales de Mejora Genética Animal, Pamplona.

## OBTENCIÓN DE PESOS ECONÓMICOS PARA SELECCIÓN POR RENTABILIDAD.

M. Ramón<sup>1</sup>, A. Legarra<sup>2</sup>, M.D. Pérez-Guzmán<sup>1</sup>, E. Ugarte<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CERSYRA. Avda. del vino s/n, Valdepeñas, Ciudad Real.

<sup>2</sup>NEIKER. Apdo 46, Vitoria-Gasteiz 01080.

El objetivo final de cualquier programa de mejora es aumentar el beneficio global de la empresa a la que va dirigido, teniendo en cuenta el entorno socio-económico y productivo en el que se va a desarrollar, desde que se pone en marcha y hasta que se alcanza dicho objetivo.

### Métodos

La selección de los animales, por tanto, se realizará para maximizar la rentabilidad de nuestra empresa en las siguientes generaciones. Meuwissen y Goddard (1997) propusieron incluir el beneficio como un nuevo carácter en una valoración BLUP multicarácter, seleccionando a aquellos animales con mayor EBV para el beneficio. El mayor inconveniente que se encontraron fue que no todos los caracteres que afectan al beneficio se miden en todos los animales.

Una aproximación alternativa para selección por beneficio es la propuesta por Hazel (1943), siendo el método preferido actualmente. Éste propone definir un genotipo agregado y usarlo para obtener un índice de selección. El **genotipo agregado (H)** pretende describir la variación genética que se da en el objetivo de cría tan completamente como sea posible en términos de una función lineal de valores genéticos para caracteres biológicos, junto con los valores económicos de esos caracteres. Todos aquellos caracteres que contribuyan directamente al objetivo de cría deben ser incluidos; de no ser así se podrían tomar decisiones por debajo del óptimo.

La metodología empleada para valorar y estimar la importancia económica relativa de los caracteres del objetivo de cría es bastante variada. Basándonos en la definición de genotipo agregado, el **valor económico** de un carácter  $i$ , se define como el efecto de un cambio marginal unitario en el nivel genético de dicho carácter  $i$  ( $g_i$ ) en la función objetivo (es decir, la función de beneficio) manteniéndose constantes el resto de caracteres incluidos en el genotipo agregado. Existen tres métodos generales para el cálculo de pesos económicos:

- (a) Accounting method: el valor económico se define como la diferencia entre ingresos menos costes:  $v_i = r_i - c_i$ , siendo  $r_i$  y  $c_i$  los ingresos y costes asociados al incremento en una unidad de la media para el carácter  $i$ , respectivamente.
- (b) Función de beneficio: ecuación que describe los cambios en el beneficio económico como función de una serie de parámetros físicos, biológicos y económicos. El valor económico del carácter  $i$  se obtiene como la derivada parcial de la función respecto a dicho carácter evaluada a nivel del valor medio poblacional para cada uno de los caracteres.
- (c) Modelo bioeconómico: sistema de ecuaciones que describen aspectos biológicos y económicos relevantes en el sistema de producción. Encontramos un ejemplo en Van Arendonk (1985) para ganado lechero.

### Función de beneficio

El método más usado es la obtención de pesos a partir de una **función de beneficio**. Ésta se puede definir como una función de variables genéticas, económicas y de manejo:

$$B = f(g_1, g_2, \dots, g_n, m_1, \dots, m_r, \pi_1, \dots, \pi_s)$$

siendo  $g_i$  el nivel genético para el carácter individual  $i$ , y  $m_j$  y  $\pi_k$  los valores de manejo y económicos, respectivamente. Normalmente y para simplificar se asume que el beneficio es función del nivel genético para un conjunto de parámetros económicos y de manejo dados:

$$B=f(g_1, g_2, \dots, g_n)$$

A la función de beneficio se le piden unas condiciones (Gibson, 1992):

- (1) El incremento en el beneficio ha de deberse únicamente a cambios genéticos y no de otro tipo.
- (2) Las condiciones de manejo han de ser representativas del momento y lugar donde se desarrolla el cambio genético.
- (3) Los parámetros económicos han de reflejar la situación de mercado y sistema de producción del momento y lugar donde se produce el cambio.

Existe un amplio rango de posibles sistemas de manejo. La función de beneficio se puede desarrollar para representar un sistema de manejo particular o puede representar distintos manejos incluyendo variables de manejo. Ahora bien, es importante seleccionar sólo para aquellos aspectos cuya mejora no pueda lograrse mediante mejoras en el manejo, es decir, la selección debe realizarse en condiciones de manejo óptimas.

La función de beneficio ha de ser representativa de lo que ocurre en nuestra empresa. Teniendo en cuenta que la relación de los caracteres objetivo de selección con el beneficio no siempre va a ser lineal, se plantea la posibilidad de utilizar funciones de beneficio no lineales, que describan mejor los cambios en el beneficio, pero son más difíciles de definir; o bien se puede sacrificar algo de precisión buscando la mejor aproximación lineal. Teniendo en cuenta que el cambio genético es lo suficientemente pequeño en cada generación, la aproximación lineal se considera habitualmente satisfactoria (Goddard, 1983).

El peso económico de un carácter valora los cambios en el beneficio debidos a un cambio genético en dicho carácter, manteniéndose el resto de los caracteres constantes a su nivel medio. Puede darse una respuesta correlacionada entre caracteres. Entonces el valor medio a utilizar para aquellos caracteres que varían al hacerlo el carácter a estudio debería ser el posterior a la selección y no el previo. Y lo mismo podríamos decir de las condiciones de manejo y el sistema de producción considerados como base de evaluación, pues la mejora genética de los distintos caracteres podría necesitar de cambios en dichos sistemas para adaptarse a las nuevas condiciones productivas. Moav y Hill (1966) y Goddard (1983) propusieron un método gráfico para maximizar la respuesta a lo largo de una generación, y Pasternak y Weller (1993) y Dekkers et al. (1995) lo demostraron de forma matemática, calculando los pesos mediante un proceso iterativo. Es posible generalizar este método para considerar más de una generación de selección. Así Dekkers et al. (1995) señalan que el objetivo general de selección consiste en maximizar el beneficio a lo largo de un horizonte planificado de  $T$  generaciones, considerando un factor de ponderación para el beneficio a tiempo  $t$ . En general y para la mayoría de los casos, la aproximación clásica de obtención de pesos basada en las medias actuales para los distintos caracteres se considera suficientemente exacta.

### **Perspectiva**

Al diseñar la función de beneficio se debe tener en cuenta las diferentes perspectivas del sistema productivo: empresas de mejora, productor primario, consumidor, el mercado como un todo o cualquier otra. Se presenta el problema de decidir a quién va ir dirigido el progreso genético. El beneficio se puede expresar por



ganadería, animal o unidad de producto. El objetivo de cría puede maximizar el beneficio (definido como ingresos menos gastos), maximizar la eficiencia económica (definida como el cociente de ingresos entre gastos) o minimizar la inversa de la eficiencia económica. Los pesos económicos obtenidos difieren entre las distintas perspectivas. La idea es desarrollar una estrategia de selección consistente que sirva para todas las situaciones. Para ellos se han propuesto 5 aproximaciones:

- (1) Beneficio normal o beneficio cero ( Brascamp et al, 1985): se incluye el beneficio empresarial neto como un coste.
- (2) Reescalamiento (Smith et al, 1986): se eliminan los cambios en el beneficio debidos a cambios de escala en la empresa.
- (3) Base fija de comparación: se restringen los ingresos o costes totales o el beneficio global, manteniéndolos constantes (Dekkers, 2003).
- (4) Definir el objetivo como eficiencia económica (Dickerson, 1978)
- (5) Optimización de escala (Amer y Fox, 1992): incrementa la escala del sistema productivo hasta alcanzar un óptimo para el siguiente nivel genético.

Todas ellas consiguen que los pesos económicos definidos bajo las distintas perspectivas sean equivalentes.

### **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo se ha realizado en el proyecto INIA RTA-02-002-C2. M. Ramón agradece al INIA su beca predoctoral. A. Legarra agradece su financiación parcial por el INIA.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- P.R. Amer, G.C. Fox. 1992. Estimation of economic weights in genetic improvement using neoclassical production theory: an alternative to rescaling. *Anim. Prod.* 54: 341-350.
- E.W. Brascamp, C. Smith, D.R. Guy. 1985. Derivation of economic weights from profit equations. *Anim. Prod.* 40: 175-179.
- J.C.M. Dekkers, P.V. Birke, J.P. Gibson. 1995. Optimum linear selection indexes for multiple generation objectives with nonlinear profit functions. *Anim. Sci.* 65: 165-175.
- J.C.M. Dekkers. 2003. Design and economics of animal breeding strategies. Notes for summer short course. Iowa State University.
- G.E. Dickerson. 1978. Animal size and efficiency: basic concepts. *Anim. Prod.* 27: 367-379.
- JP Gibson. 1992. The design and economics of animal breeding strategies. First Presented as Nordic Graduate course, Greve, Denmark.
- M.E. Goddard. 1983. Selection indexes for non-linear profit functions. *Theor. Appl. Genet.* 64: 339-344.
- L.M. Hazel. 1943. The genetic basis for constructing selection indexes. *Genet.* 28: 476-490.
- T.H.E. Meuwissen, M.E. Goddard. 1997. Selection of farm animals for non-linear traits and profit. *Anim. Sci.* 65: 1-8.
- R. Moav, W.G. Hill. 1966. Specialized sire and dam lines IV. Selection within lines. *Anim. Prod.* 8: 375-390.
- H. Pasternak, J.I. Weller. 1993. Optimum linear indices for non-linear profit functions. *Anim. Prod.* 55: 43-50.
- C. Smith, J.W. James, E.W. Brascamp. 1986. On the derivation of economic weights in livestock improvement. *Anim. Prod.* 43: 545-551.
- J.A.M. Van Arendonk. 1985. A model to estimate the performance, revenues and costs of dairy cows under different production and price situations. *Agric. Systems*, 16: 157-189.

## **PESOS ECONÓMICOS EN OVINO LECHERO EN RAZAS LATXA Y MANCHEGA**

A. Legarra<sup>1</sup>, M. Ramón<sup>2</sup>, E. Ugarte<sup>1</sup>, M.D<sup>2</sup>. Pérez-Guzmán

<sup>1</sup>NEIKER. Apdo 46, Vitoria-Gasteiz 01080.

<sup>2</sup>CERSYRA. Avda. del vino s/n, Valdepeñas, Ciudad Real.

### **INTRODUCCIÓN**

El uso de pesos económicos como base para el criterio de selección de un esquema de mejora es, en general, económicamente óptimo (Goddard, 1998). Sin embargo, en la mayoría de esquemas de mejora genética el objetivo de selección se elige de forma empírica empíricamente. A diferencia de otras especies como porcino, vacuno de leche y carne y ovino de carne o lana, no existen estimaciones de pesos económicos para ovino lechero si bien existen algunos estudios relacionados (Gabiña et al., 2000).

El objetivo del presente trabajo es presentar la primera estimación de pesos económicos en ganado ovino de leche, en las razas Manchega y Latxa. Se han considerado los siguientes caracteres: producción de leche (litros ordeñados por oveja parida), fertilidad (número de partos por oveja presente), prolificidad (número de corderos por parto) y vida productiva, como número de años que permanece un animal en el rebaño, desde el momento en el que es capaz de producir. En un sistema con 1 parto/año, sería igual al número de lactaciones que un animal permanece en el rebaño. Si bien el determinismo genético de la fertilidad no es muy alto (un buen manejo puede aumentarla a prácticamente 1), se incluyó dada su importancia a priori en la función de beneficio y para evitar distorsiones en la misma. El carácter vida productiva se incluyó como una medida general de los diferentes caracteres funcionales que pueden ser causa de desecho, como la resistencia a enfermedades o adaptación al sistema de producción.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los pesos económicos se han calculado, según la aproximación clásica, como las derivadas parciales, respecto de los caracteres de interés, de la función de beneficio. Los datos necesarios para la función de beneficio fueron recogidos, en el caso de la raza Latxa, de los centros de gestión (Lorra, Abelur, Lurgintza y Sergal), que los utilizan en los servicios de asesoría técnico-económica. En el caso de la raza Manchega se recogieron mediante encuestas realizadas por técnicos de la asociación de criadores AGRAMA. Una descripción de los mismos se presenta en Ramón et al. (2005).

#### **Función de beneficio lineal simple**

Se utilizó una función de beneficio lineal en la que se consideraron ingresos y gastos fijos (no dependientes del nivel de los caracteres estudiados), ingresos variables provenientes de la venta de corderos y de leche, y gastos variables (alimentación y mano de obra) implicados en la cría, producción de leche y producción de corderos.

En el caso de la raza Latxa se incluyó, en el coste de producción de leche, el tiempo de mano de obra destinada a la fabricación de queso, de acuerdo a la proporción de la leche destinada al mismo. Esto se hizo así para considerar que el precio final obtenido por litro de leche es más alto, pero que también existe una mano de obra adicional. En la raza Latxa se puede considerar un coste de mano adicional en los partos dobles, dado que a menudo es necesaria la intervención del ganadero por lo que algunos de ellos son reacios a un aumento de la prolificidad. Como este coste adicional es desconocido, se han tanteado diferentes valores del mismo; aquí se presenta el caso en el que no hay diferencia en mano de obra entre

partos simples y dobles. En la raza Manchega se ignoró que la mano de obra era la misma por cordero (es decir, el doble en partos dobles).

El beneficio se calcula como la diferencia de estas funciones, y a partir del mismo se calcularon las derivadas parciales y los pesos económicos para cada carácter.

### **Función de beneficio con reescalamiento**

La función de beneficio presentada en el apartado anterior tiene el problema de que el beneficio crece indefinidamente con el tamaño de la explotación, ya que no tiene en cuenta la existencia de óptimos para las variables de la misma, como por ejemplo el tamaño. Asimismo, en empresas en competencia perfecta, el beneficio empresarial (una vez descontados los costes de mano de obra del dueño, si trabaja en la misma) debe ser próximo a cero. Esto no es así en el caso de la Latxa. Ambos problemas están relacionados y vienen dados por una incorrecta modelización de la empresa (Amer y Fox, 1992). Este problema ha sido ampliamente discutido (véase Goddard, 1998, para discusión y referencias). Goddard (1998) propone asumir como una restricción aquél coste que sea más difícil de computar, según Visscher et al. (1994). Dichos autores consideran que ésta es una modelización más adecuada de la empresa, sin llegar a la complejidad de las propuestas de Amer y Fox (1992). Esta manera de considerar la restricción es equivalente a los diferentes reescalamientos propuestos por otros autores.

De acuerdo a esta argumentación, se ha asumido que el factor limitante es la mano de obra. Esto es especialmente cierto en el caso de la raza Latxa donde son empresas familiares dedicadas a la producción de leche, o leche y queso, que no pretenden crecer y que en cualquier caso tienen dificultades para contratar mano de obra adecuada.

El reescalamiento propuesto por Visscher et al. (1994) es el siguiente:

$$dP_1/dx = dP/dx - (dW/dx)(P_0/W_0)$$

donde  $P_1$  es el beneficio,  $x$  es el carácter considerado,  $P$  es el beneficio antes de considerar el reescalamiento,  $W$  es la función que describe la mano de obra total necesaria y  $P_0/W_0$  el beneficio aportado por hora trabajada. La ecuación pretende describir el cambio en el beneficio al considerar un cambio en el sistema de explotación (normalmente en el número de animales).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la tabla 1 se presentan los pesos económicos (por animal adulto presente en la explotación), para todas las explotaciones (caso de la Manchega) o las medianas de los pesos económicos para cada provincia (raza Latxa). La variabilidad dentro de raza no es muy alta. Aunque no se muestra, en la raza Latxa la variabilidad dentro de provincia tampoco es muy alta; no obstante, queda por hacer un estudio más detallado en la misma, especialmente de las diferencias entre los que fabrican queso y los que no.

El peso económico de la fertilidad es en todos los casos muy elevado; esto se debe tanto a la unidad de medida, como al hecho de que un aumento en fertilidad hace que un animal produzca tanto leche como corderos. Por otra parte, el peso económico de la leche es bastante estable. Las diferencias entre Latxa y Manchega se deben, por una parte, a los mayores costes de alimentación de la última y, por otra, a la mayor valorización de la leche en el País Vasco, ya que se produce queso en la propia explotación. Esto sucede incluso aunque se ha considerado el coste de mano de obra. El peso económico de la fertilidad también es alto en general, especialmente en la raza Latxa donde, de nuevo, el coste de alimentación es

inferior. En cuanto al peso económico de la vida productiva, es más alto en la raza Manchega, debido a que la alimentación de la recria es más costosa.

Tabla 1. Pesos económicos para algunos caracteres de interés (€/unidad de medida del carácter).

	Latxa. Año 2002			Manchega. Año 2003			
	Álava	Bizkaia	Gipuzkoa	A	B	C	D
	Pesos Simples						
Fertilidad	142,71	135,82	133,17	85,72	125,27	106,47	92,89
Leche	1,13	1,33	1,36	0,72	0,58	0,6	0,59
Prolificidad	34,90	35,10	48,94	18,55	17,34	20,26	18,88
Vida Productiva	1,86	1,71	1,42	2,19	3,32	1,99	1,49
	Pesos con Reescalamiento						
Fertilidad	103,25	128,90	111,98	62,21	107,17	88,43	71,1
Leche	0,90	1,24	1,05	0,52	0,51	0,5	0,45
Prolificidad	35,36	36,52	50,45	14,62	14,04	18,12	15,84
Vida Productiva	1,77	1,57	1,44	2,45	3,59	2,18	1,62

Los pesos económicos con reescalamiento son bastante similares a los simples. En general, los pesos económicos disminuyen, ya que existe una penalización adicional en los costes de mano de obra respecto a la función de beneficio simple. Sin embargo, aquellos caracteres cuyo aumento no implica mano de obra adicional (es el caso de la prolificidad en la raza Latxa) presentan un aumento de su peso económico.

En cualquier caso, la semejanza entre pesos económicos refuerza la idea de que un esquema de selección que aplicara un índice con unos pesos económicos iguales para todas las explotaciones sería adecuado. Por otra parte, la respuesta a la selección de los caracteres fertilidad, prolificidad y vida productiva es muy lenta. Esto hace que la mayor parte de la ganancia genética se produjera para la cantidad de leche. Por tanto, la orientación actual de estos esquemas hacia cantidad de leche no está lejos del óptimo.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el proyecto INIA RTA-02-002-C2. M. Ramón agradece al INIA su beca predoctoral. A. Legarra agradece su financiación parcial por el INIA. Agradecemos especialmente a Abelur, Lurgintza, Lorra y Sergal y sus técnicos y a todos los ganaderos implicados en el estudio la cesión de los datos y su colaboración en la discusión de los resultados.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

D. Gabiña, E. Ugarte, y P. Santamaría, 2000. The definition of breeding objectives in the Latxa dairy sheep breed. *Opt. Méd. série A*, 43: 19-26.

P.M. Visscher, P.J. Bowman, M.E. Goddard, 1994. Breeding objectives for pasture based production systems. *Liv. Prod. Sci.*, 40:123-137.

M.E. Goddard, 1998. Consensus and debate in the definition of breeding objectives. *J. Dairy Sci.*, 81(2):6-18.

P.R. Amer, G.C. Fox, 1992. Estimation of economic weights in genetic improvement using neoclassical production theory: an alternative to reescalating. *Anim. Prod.*, 54:341-350.

M. Ramón, A. Legarra, M.D. Pérez-Guzmán, E. Ugarte, 2005. Análisis técnico-económico de ganaderías de razas Latxa y Manchega como paso previo al cálculo de pesos económicos. XI jornadas sobre producción animal de AIDA.

## Alta eficiencia de generación de animales de producción transgénicos mediante vectores lentivirales.

Romi Pena

Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida

La generación de animales transgénicos ha contribuido extraordinariamente al avance del conocimiento en las ciencias biomédicas y agrícolas. La técnica más utilizada, la microinyección de partículas de ADN en uno de los dos pronúcleos de cigotos, es utilizada rutinariamente para la generación de ratones transgénicos.

Así mismo, la generación de animales de producción transgénicos es una de las promesas más fascinantes de la biotecnología por sus múltiples aplicaciones. Su utilización potencial incluye su uso como modelo animal tanto para patologías humanas como para el estudio de procesos fisiológicos. Sin embargo, hasta muy recientemente la aplicación de esta tecnología en animales de producción se ha visto restringida por el alto esfuerzo y enorme coste económico requerido para producir uno o pocos animales. Hace dos décadas se publicaba el primer trabajo de cerdos y ovejas transgénicos (Hammer *et al.*, 1985). La eficiencia era más baja que en ratones (1% de los cigotos microinyectados frente a un 5% en ratones), porcentaje que no ha variado en los últimos 20 años. Pese a su ineficiencia, la técnica de microinyección en pronúcleo se ha mantenido hasta la actualidad la técnica más utilizada para generar tanto ratones como animales de producción transgénicos debido a su alta repetibilidad.

Aunque se han descrito algunas técnicas alternativas, éstas no han gozado de mucha popularidad bien por sus resultados inconsistentes en el caso de la utilización de espermatozoides como transportador de ADN transgénico (Lavitrano *et al.*, 2002) o por los problemas de mortalidad embrionaria y perinatal asociados en la transferencia nuclear a partir de células transgénicas (Schnieke *et al.*, 1997 y Wilmut *et al.* 1997).



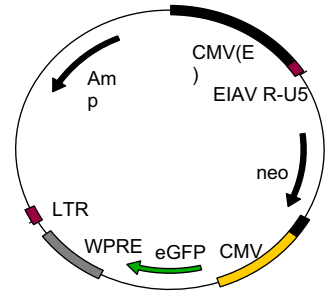
Recientemente, se ha logrado generar cerdos y terneros transgénicos a partir de vectores lentivirales (Pfeifer *et al.*, 2002; Lois *et al.*, 2002; Hoffmann *et al.*, 2003). A diferencia del uso de vectores retrovirales, los lentivirus consiguen una altísima eficiencia de infección que se materializa en un espectacular porcentaje de animales positivos. Esta diferencia radica en su capacidad de infectar células independientemente de su estado de replicación. Su amplio tropismo también viene dado por la proteína de envoltura de estos virus, cuyo receptor es común a todas las células de mamífero. Una vez dentro de la célula, el genoma vírico es retrotranscrito a DNA y transportado al núcleo, donde se integra. Los lentivirus utilizados en esta tecnología son de replicación defectiva. Esto se consigue mediante la mutación de la secuencia LTR 3' lo que imposibilita la salida del virus de su lugar de integración.

La gran mayoría de los trabajos publicados sobre animales transgénicos generados con lentivirus utilizan un vector basado en el virus de la inmunodeficiencia adquirida humana (HIV). En colaboración con el Instituto Roslin (Escocia, Reino Unido) hemos validado la utilización de vectores derivados del virus de la anemia infecciosa equina (EIAV) para su uso en la generación de animales transgénicos. Para este experimento decidimos utilizar la secuencia de una proteína fluorescente de medusa (GFP: *Green Fluorescent Protein*) por la fácil detección de su expresión en animales.

El primer paso hacia la generación de virus es la clonación de la secuencia codificante para GFP en un vector plasmídico híbrido. Este plásmido contiene las secuencias necesarias

para la replicación del vector en bacterias y los elementos para el empaquetamiento de la construcción en viriones (LTR 5', LTR 3' y señal  $\psi$  de empaquetamiento). Este trabajo no difiere substancialmente de la clonación rutinaria de genes en vectores plasmídicos.

El segundo paso requiere la co-transfección transitoria de este vector con tres plásmidos de empaquetamiento que aportan, en *trans*, las proteínas estructurales y replicativas necesarias para la producción de lentivirus. La co-transfección se realiza en líneas celulares que permitan la replicación y empaquetamiento del virus, como la línea 293FT, derivada de fibroblastos de riñón humanos. Tras dos días de cultivo, se recoge, filtra y concentra el medio de cultivo en el que se encuentra el virus.



Un punto crítico para obtener altas eficiencias de transducción es el título viral. A diferencia de la labilidad de los vectores retrovirales, los lentivirus resisten sin dificultades velocidades y tiempos elevados de centrifugación, facilitando su concentración. Hay varias estrategias para estimar el título de la preparación, desde la detección de partículas virales por métodos ELISA o de PCR cuantitativa a ensayos funcionales por transducción de células y recuento de clones resistentes tras 14 días. En todo caso, es necesario que el título de la preparación esté entorno a  $10^8$ - $10^9$  cfu/ml.

El siguiente paso es la infección de los cigotos con los lentivirus. Las dos técnicas descritas para la infección del cigoto son la microinyección de virus en el espacio perivitelino o el cocultivo de los embriones sin zona pelúcida en una solución altamente concentrada de virus. En nuestras manos, el primer método ha dado mucho mejores resultados ya que es poco invasivo y facilita la recuperación de los cigotos y su desarrollo a mórula y blastocisto. En cambio, los embriones se recuperaban mal de la exclusión física de la zona pelúcida resultando en un menor porcentaje de blastocistos sanos.

Se microinyectaron 147 cigotos obtenidos de cinco cerdas donantes. Un total de 120 se desarrollaron normalmente hasta el estado de blastocisto y fueron transferidos a cinco cerdas receptoras. Cuatro de estas hembras llegaron a final de gestación y parieron un total de 40 lechones (33% de los transferidos). De estos 40 lechones, 37 (97%) eran positivos para el transgén (detectado por PCR o Southern blotting). De estos 37 animales transgénicos, 34 expresaban GFP, visualizable como pigmentación verde al exponer la piel o los órganos a luz azul.

El análisis por Southern blotting demostró un alto grado de mosaicismos en estos animales F0. El nivel de transmisión a la F1 es alto, permitiendo establecer líneas estables de cerdas transgénicas. El alto nivel de expresión observado en los fundadores se mantiene en la siguiente generación. Este dato es vital, pues está bien descrito en retrovirus la inactivación de la expresión (*silencing*) a largo plazo. Aunque, debido al largo espacio intergeneracional, solo se tiene información de pocas generaciones, parece ser que este no es el caso con los lentivirus y que su nivel de expresión se mantiene estable de generación en generación. Este detalle es imprescindible para plantear experimentos de terapia génica o para el establecimiento de líneas de animales transgénicos.

También hemos utilizado vectores basados en el virus HIV en otros proyectos todavía en curso. Unos de ellos utilizan una estrategia de RNA de interferencia para bloquear la expresión de varios genes endógenos. La horquilla de RNA se expresa a partir de un promotor dependiente de la polimerasa III. El objetivo del otro proyecto es reproducir una patología ocular humana en cerdas transgénicas. Estos animales serán utilizados en experimentos de terapia génica. El mayor tamaño del ojo (respecto al ratón) facilita la labor de los cirujanos que administran esta terapia en el espacio periretinal.

El desarrollo de vectores lentivirales capaces de transferir ADN transgénico a un amplio espectro de células ha avivado de nuevo las viejas expectativas que esta tecnología puede aportar a la biotecnología animal. Uno de los factores limitantes más importantes es el tamaño del ADN que puede ser clonado en estos vectores (10 Kb máximo, aunque a partir de 6 Kb se consiguen titulaciones virales más reducidas). Por lo tanto, las construcciones con cDNAs o de ARN de interferencia son las más adecuadas para estos vectores. Aún con todo, las posibilidades comprenden tanto el uso como modelo animal, como la prevención de enfermedades infecciosas en animales de producción o el estudio de genes candidatos de relevancia en caracteres de producción. Quizás el avance más importante es que la reducción de costes para la generación de animales de producción transgénicos puede, por fin, abrir las puertas de esta tecnología a la comunidad académica.

#### REFERENCIAS:

- Hammer RE, Pursel VG, Rexroad CE, Wall, RJ, Bolt DJ, Ebert KM, Palmiter RD y Brinster RL (1985) *Nature* 315, 680-683.
- Hofmann A, Zakhartchenko V, Weppert M, Selbad H, Wenigerkind A, Brem G, Wolf E y Pfeifer A (2004) *Biol Reprod.* 71(2), 405-9.
- Lavitrano M, Bacci ML, Forni M, Lazzereschi D, DiStephano C, Fioretti D, Giacotti P, Marfe G, Pucci L, Renzi L, Wang H, Stoppacciaro A, Stassi G, Sargiacomo M, Sinibaldi P, Turchi V, Giovannonno R, Della Casa G, Seren E y Rossi G (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 14230-14235.
- Lois C, Hing EJ, Pease S, Brown EJ y Baltimore D (2002) *Science* 295, 868-872.
- Pfeifer A, Ikawa M, Dayn Y y Verma IM (2002) *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 2140-2145.
- Schnieke AE, Kind AJ, Ritchie WA, Mycock K, Scott A, Ritche M, Wilmut I, Colman A y Campbell KH (1997) *Science* 278, 2130-2133.
- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH (1997) *Nature* 385, 810-813.

## CONSECUENCIAS GENÉTICAS DE LOS PLANES DE ERRADICACIÓN DE LA E.E.T. EN EL ESQUEMA DE SELECCIÓN DE LA RAZA OVINA MANCHEGA

Smulders, J.P.<sup>1</sup>; Serrano, M.<sup>1</sup>; Pérez Guzmán, M.D.<sup>2</sup>; Jimenez, M.A.<sup>1</sup>; Jurado, J.J.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera La Coruña, km. 7,5. 28040 Madrid.  
<sup>2</sup> Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA). Avda. del Vino, 6. 13300 Valdepeñas.

### INTRODUCCIÓN

El *scrapie* es una enfermedad ovina causada por priones que pertenece al grupo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs), de la misma forma que la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), cuya transmisión a los humanos es plenamente conocida. Esto ha conducido a considerar todas las EETs como enfermedades animales de riesgo para la salud humana (Lasmézas, 2003; Detwiler y Baylis, 2003).

Se ha demostrado la existencia de distintos grados de resistencia genética al *scrapie*, asociados en principio a las combinaciones de 5 alelos definidos por polimorfismos del gen PrnP, conocidos como: ARR, ARH, ARQ, AHQ y VRQ (Elsen et al., 1999), producto de lo cual y dado la tendencia observada en la Comunidad Europea, probablemente se establezca un programa nacional de selección genética para la resistencia a EETs en ovinos, implicando dentro de él, a todos los esquemas de selección de ovinos existentes en España.

Los esquemas de selección de ovinos lecheros españoles, entre ellos el de la raza ovina Manchega (ESROM), han manifestado su preocupación sobre los impactos asociados a la probable obligatoriedad de incluir criterios drásticos de selección por resistencia a *scrapie* y ante ese escenario esperado, han presentado propuestas alternativas (INIA-AGRAMA, 2003).

El objetivo de este trabajo es evaluar y comparar mediante un modelo de simulación la respuesta de algunas variables genéticas de interés ante distintos escenarios. Concretamente se plantean la aplicación y proyección del esquema actual de selección sin incluir criterios de resistencia a *scrapie* (ESA) e incluyendo dichos criterios según la propuesta del ESROM con dos niveles de uso de recursos (MA1 y MA2). Asimismo, se incluye una propuesta más drástica e intensa elaborada en instancias administrativas (ADM).

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se programó un modelo estocástico de simulación genética basado en el ESROM, utilizando los parámetros genéticos descritos por Serrano et al. (1996). En dicho esquema el objetivo de selección es la lactancia estandarizada a 120 días.

El modelo genético incluye la generación de los valores genéticos verdaderos (VGAV) de la población base muestreando de una distribución  $N(0, \sigma_a^2)$ . Los VGAV de las nuevas generaciones serán obtenidos mediante (1), donde  $u_i$  corresponde al VGAV de la cría,  $u_s$  al VGAV del padre,  $u_d$  al VGAV de la madre,  $x_y$  es un valor aleatorio con distribución normal estándar,  $F_s$  y  $F_d$  son los coeficientes de consanguinidad verdaderos del padre y la madre y  $\sigma_a$  es la desviación estándar genética aditiva de la población.

$$u_i = \frac{1}{2} u_s + \frac{1}{2} u_d + x_y \sigma_a \left[ 1 - \frac{1}{4}(1 + F_s) - \frac{1}{4}(1 + F_d) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

El modelo fenotípico (2), incluye a  $\mu$  (media de la población),  $u_i$  y  $p_i$  (VGAV y desvío ambiental permanente respectivamente),  $RAE_j$  (interacción triple entre rebaño, año y estación),  $NPE_k$  (número de parto y edad en meses de la oveja),  $TC_l$  (tamaño de camada al parto),  $DPPC_m$  (intervalo en días entre el parto y el primer control lechero de la lactancia) y  $e_{ijklm}$  (desvío residual).

$$Y_{ijklm} = \mu + u_i + p_i + RAE_j + NPE_k + TC_l + DPPC_m + e_{ijklm} \quad (2)$$



La selección se basó en evaluaciones genéticas periódicas BLUP, mediante un modelo animal, a lo que se adicionó los criterios de selección por resistencia a *scrapie*, sujeto a las condiciones definidas en las pruebas MA1, MA2 y ADM.

Cada prueba implicó 30 años de simulación, comenzando a partir del año 1993, aplicándose las pautas del ESROM desde 1997 en adelante. La selección por resistencia a *scrapie* se aplicó desde el año 2005, dividiéndose en 3 periodos de cuatro años para MA1 y MA2, y en 2 periodos (3 y 9 años) para ADM. En el caso MA1 y MA2, en el periodo 1 se promovió la eliminación del alelo VRQ y los cruzamientos con al menos un padre portador del alelo ARR, el periodo dos se caracterizó por el uso de machos heterocigotos y homocigotos ARR y el periodo 3, con la utilización exclusiva de machos homocigotos ARR. En el caso de ADM, el periodo 1 implicó la eliminación del alelo VRQ y el uso de machos heterocigotos y homocigotos ARR y el periodo 2, el uso exclusivo de machos homocigotos ARR.

Fue necesario establecer dos niveles de disponibilidad de recursos y facilidades (Nº de machos genotipados, extensión de vida útil, entre otros), asociados con el nivel mínimo requerido para hacer operativa la propuesta del ESROM, utilizada en MA1, y mínimo necesario para hacer funcionar la propuesta de las instancias administrativas, utilizada en ADM y MA2, para efectos de realizar comparaciones en condiciones uniformes. La operatividad antes mencionada, esta vinculada a la necesidad de mantener el sistema de testaje anual de machos nuevos y disponer constantemente de existencias de machos mejorantes en el Centro de Inseminación Artificial (CIA), lo cual, se vio directamente influenciado por el momento en que se dio prioridad a la selección y utilización de los machos homocigotos ARR/ARR en las pruebas realizadas.

Cada prueba implicó 20 repeticiones y el tamaño de población utilizado fue de 30 rebaños con 300 hembras en edad reproductiva cada uno.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 pueden observarse las medias genéticas verdaderas de las hembras reemplazo (HEM) y machos de inseminación artificial (MIA) seleccionados cada temporada.

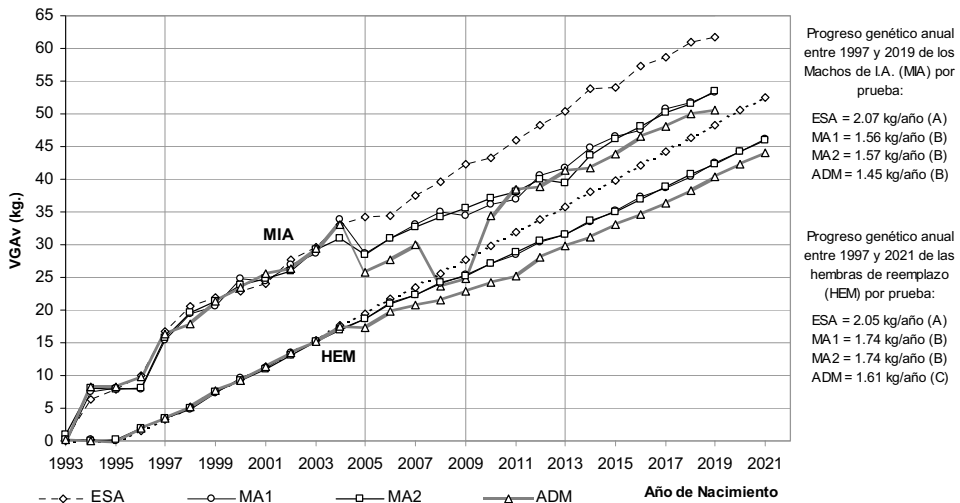


Figura 1: Valores Genéticos Aditivos verdaderos promedios de hembras de reemplazo (HEM) y machos de I.A. (MIA) por año de nacimiento y prueba. Progresos genéticos medios anuales para HEM y MIA por prueba (diferencias significativas entre paréntesis).

Al comparar la evolución de las medias genéticas y los progresos genéticos anuales se hace evidente el efecto negativo de la inclusión de los criterios de resistencia a *scrapie* (MA1, MA2 y ADM) comparado con la no inclusión (ESA). Por otra parte, las dos pruebas asociadas a la propuesta del ESROM tienen el mismo efecto sobre el progreso genético y las medias genéticas verdaderas, sin embargo, al comparar los progresos genético anuales de las hembras de las dos pruebas anteriores con la prueba ADM, se observan diferencias estadísticamente significativas.

En la Figura 2 se presenta la evolución de las frecuencias del alelo ARR en la población para cada una de las pruebas descritas, comprobándose que la prueba ADM tuvo un mayor aumento en las frecuencias. No obstante lo anterior, las diferencias con respecto a las pruebas asociadas con la propuesta del ESROM (MA1 y MA2), son especialmente importantes en los machos de I.A. entre los años 2005 y 2007 (3 primeros años), no ocurriendo lo mismo en las hembras. Además, todas estas diferencias tienden a disminuir a partir del año 2009 en adelante.

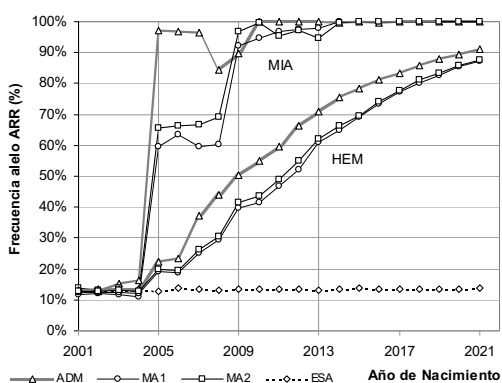


Figura 2: Frecuencia del alelo ARR para machos de I.A. (MIA) y hembras de reemplazo (HEM) por año de nacimiento y prueba.

En cuanto a la consanguinidad, no se observaron diferencias importantes entre las pruebas, debido probablemente a la utilización de una rutina de verificación de parentescos cercanos en los cruzamientos de I.A.

Como conclusión se puede afirmar que existió un efecto negativo sobre las medias genéticas y el progreso genético anual de los esquemas de selección producto de la incorporación de los criterios de resistencia a *scrapie*.

La prueba ADM implicó un nivel mayor de uso de recursos para que el esquema de selección pudiera mantener un nivel mínimo de operatividad y se asoció a su vez, con las pérdidas más importantes en VGAv medios y progreso genético anual, especialmente en las hembras, no observándose a medio y largo plazo, beneficios importantes en términos del aumento más acelerado de las frecuencias génicas del alelo ARR con respecto a la propuesta del ESROM.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Detwiler, L.A. y M. Baylis. 2003. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 22(1): 121-143.
- Elsen J.M., Y. Amigues, F. Schelcher, V. Ducrocq, O. Andreoletti, F. Eychenne, J.V. tien Khang, J.P. Poivey, F. Lantier y J.L. Laplanche. 1999. Arch. Virol, 144: 431-445.
- Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria-Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (INIA-AGRANA). 2003.
- Lasmézas, C.I. 2003. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz., 22(1): 23-36.
- Serrano, M.; Pérez-Guzmán, M.D.; Montoro, V. y Jurado, J. J. 1996. Small Ruminant Research. 23-1: 51-57.

## **ANÁLISIS DE LA ASOCIACIÓN DEL GEN *PRNP* CON CARACTERES DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN LA RAZA CHURRA\***

L. Álvarez, J.J. Arranz, L.F de la Fuente y F. San Primitivo.

Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León

### **INTRODUCCIÓN**

La tembladera (también conocida con el término inglés de “scrapie”) es un proceso incluido dentro de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (ETTs), enfermedades neurodegenerativas de progresión lenta, que cursan con un desorden neurológico y un desarrollo letal. La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) o la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) en la especie humana. Afortunadamente, se considera un proceso no zoonótico, pero es necesario un control riguroso de la enfermedad para evitar, en la medida de lo posible, la dispersión del agente causal. Por otra parte, el hecho de que la EEB haya traspasado la barrera de especie supone una llamada de atención desde el punto de vista tanto de la sanidad animal como humana.

Se asume que el agente causal de las EETs, es una glicoproteína fisiológica celular (PrP<sup>C</sup>) que, debido a un plegamiento erróneo, se transforma en una proteína anormal, denominada proteína priónica PrP<sup>Sc</sup>. Esta proteína está codificada por un gen autosómico, denominado *PRNP* y situado en el cromosoma 13. La susceptibilidad al scrapie está fuertemente relacionada con una serie de variaciones en tres codones del gen: 136 (A/V), 154 (R/H) y 171 (Q/R/H/K). Estas variaciones producen, entre otros, los haplotipos relacionados hasta ahora con la susceptibilidad a la enfermedad (ARR, AHQ, ARH, ARQ y VRQ) dando lugar a los 15 genotipos asociados con la susceptibilidad a padecer la enfermedad. En función de estos conocimientos, el 13 de febrero del 2003, la Comisión de la Unión Europea (decisión 2003/100/CE) fijó una serie de normas para la implantación de programas de cría de ovinos y caprinos resistentes a las EETs.

La Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino de Raza Churra (ANCHE) gestiona el programa de selección para esta raza iniciado en 1986, con el objetivo de conseguir un incremento en la producción láctea. Este programa de mejora se ha visto condicionado como consecuencia de la decisión establecida por la Comisión Europea y es importante conocer las posibles consecuencias sobre los caracteres productivos que puede tener la utilización como objetivo de selección, de genotipos concretos del gen *PRNP*. En el presente trabajo se pretende conocer la posible asociación entre las variantes alélicas del gen *PRNP*, con los caracteres de producción de sometidos a selección en el programa de mejora de la raza Churra.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Análisis genotípico:** Se han analizado un total de 28.172 hembras de la raza Churra, pertenecientes a 51 rebaños del núcleo de selección de ANCHE. El proceso de genotipado ha sido realizado según la técnica de miniselección o “*primer extension*” descrita por Álvarez et al., 2003.

**Análisis estadísticos:** A partir de los datos del control lechero oficial, se han buscado posibles asociaciones con los genotipos del gen *PRNP*. Los datos se analizaron en función de un modelo lactacional (para la producción de leche) o de controles (en el caso de la calidad bromatológica de la leche y el recuento de células somáticas) con los siguientes modelos lineales mixtos, utilizando el procedimiento MIXED de SAS,

---

\* Trabajo financiado el Ministerio de educación y Ciencia (EET2003-00079)

$$Y_{ijklm} = \mu + FYS_i + LG_j + LT_k + YB_l + GE_m + S_n + e_{ijklmn} \text{ (modelo 1)}$$

$$Y_{ijklm} = \mu + FTD_i + LG_j + ML_k + YB_l + GE_m + S_n + e_{ijklmn} \text{ (modelo 2)}$$

Donde Y es el valor de cada uno de los caracteres: producción de leche (modelo 1), porcentaje de grasa, porcentaje de proteína o recuento de células somáticas (modelo 2).  $FYS_i$  es el efecto del rebaño-año-estación;  $FTD_i$  indica el efecto del rebaño-fecha de control,  $LG_j$  muestra el efecto edad al parto;  $LT_k$  es el efecto del tipo de parto (único o doble);  $ML_k$  es el efecto del mes de lactación;  $YB_l$  indica el efecto del año de nacimiento;  $GE_m$  señala el efecto del genotipo a nivel del gen *PRNP*;  $S_n$  indica el efecto variable del semental y  $e_{ijklmn}$  es el efecto residual.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra las frecuencias genóticas de la población analizada para el gen *PRNP*. Los genotipos han sido agrupados con objeto de equilibrar el modelo. El agrupamiento se ha realizado siguiendo los criterios de resistencia, o los denominados “grupos de riesgo”.

**Tabla 1.** Frecuencias genóticas del gen *PRNP* en la población de raza Churra

Grupo	Genotipos	Nº	Frecuencia (%)
ARQ/ARQ	ARQ/ARQ	15960	56,65
ARR/ARR	ARR/ARR	1157	4,11
ARR/XXX	ARR/AHQ ARR/ARH ARR/ARQ	8601	30,53
AHQ/XXX	AHQ/AHQ AHQ/ARH ARQ/AHQ	743	2,64
ARH/XXX	ARH/ARH ARH/AHQ	958	3,40
VRQ/XXX	VRQ/VRQ VRQ/AHQ VRQ/ARQ VRQ/ARH VRQ/ARR	753	2,67
Total		28172	100

Como se puede observar, el grupo de animales más numeroso corresponde a los homocigotos portadores del alelo considerado salvaje (ARQ) con más del 50% de los animales muestreados. Por lo que se refiere a los animales considerados como resistentes (portadores del alelo ARR), constituyen, para el caso de los homocigotos, un 4% de la población y en el caso de los heterocigotos, más del 30% de la misma. En el caso de los animales sensibles, portadores del alelo “VRQ”, representan únicamente el 2,67% de los animales analizados.

En las razas lecheras de Castilla y León, la situación es muy similar a la descrita en Churra, siendo el genotipo ARQ el de mayor frecuencia tanto en Castellana como en la población de Assaf (porcentaje cercano al 50%). En el caso de Castellana la frecuencia de animales homocigotos resistentes es muy similar, mientras que en Assaf se acerca al 9%. Por lo que se refiere al resto de razas españolas analizadas, la situación es similar, es decir predominio de los animales con genotipo “salvaje” y un porcentaje de animales portadores del alelo resistente cercano al 30%, aunque existen ligeras variaciones en cada población (Acin et al., 2004; García-Crespo et al.,

2004). Respecto a las razas europeas, en el Reino Unido alrededor de la mitad de la población de ganado ovino es portadora del alelo salvaje. La frecuencia del alelo resistente depende en gran medida de la raza, variando desde un 70% en la raza Suffolk, hasta un 30% en la raza Blackface (Townsend et al., 2005). En Francia, la situación en las razas lecheras varía en gran medida. La raza Lacaune ha resultado ser bastante resistente desde el primer momento mientras que la raza Manech presenta una situación muy similar a la descrita en razas españolas. En las razas cárnicas como Berrichon du Cher o Île de France, el alelo ARR exhibe una alta frecuencia, superior al 60% (Palhière et al., 2002).

En la Tabla 2 se muestra la significación estadística de los efectos fijos contemplados en el análisis de asociación. Como puede observarse, en ninguno de los cuatro fenotipos analizados se encontró asociación estadística con el genotipo del gen PRNP, siendo el resto de factores contemplados en cada modelo altamente significativos.

**Tabla 2:** Significación estadística de los efectos fijos analizados para los fenotipos relacionados con los caracteres lecheros en raza Churra.

Fenotipo	FYS	FTD	LG	LT	ML	YB	GE
Producción de leche	***	--	***	***	--	***	NS
% de Grasa	--	***	***	--	***	***	NS
% de Proteína	--	***	***	--	***	***	NS
SCC	--	***	***	--	***	***	NS

\*\*\*P < 0.001    \*\*P < 0.01    \*P < 0.05    NS: P > 0.05

Resultados similares a los descritos han sido observados por Barillet et al., (2002) en las razas ovinas francesas *Lacaune* y *Manech* y por De Vries et al. (2005) en la raza *East Friesian* alemana. Aunque en la raza Churra tampoco existe evidencia de que exista una asociación directa del gen con los fenotipos de interés en el programa de selección, existe una consecuencia indirecta que es la reducción del tamaño de la población de machos que pueden ser elegidos como "machos en prueba". Esta situación puede mediatizar de forma importante el programa de selección. Además, la existencia de nuevas cepas priónicas que pueden atacar a los animales resistentes a las cepas clásicas (Baylis y McIntyre, 2004) puede condicionar la toma de decisiones a este respecto en un futuro. Los problemas de coevolución adquieren en este caso una nueva dimensión, debido a las peculiaridades del agente causal del proceso patológico

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acin C, Martin-Burriel I, Goldmann W, Lyahyai J, Monzon M, Bolea R, Smith A, Rodellar C, Badiola JJ, Zaragoza P. (2004). *J Gen Virol*. 85: 2103-2110.
- Álvarez L., Arranz, J.J. y San Primitivo, F. (2003). *ITEA* 24:480-482.
- Barillet, F., O. Andreoletti, I. Palhière, X. Aguerre, J. M. Arranz, S. Minery, C. Soulas, J. P. Belloc, M. Briois, G. Fre'geat, P. Teinturier, Y. Amigues, J. M. Astruc, M. Y. Boscher, and F. Schelcher. (2002) *7th WCGALP* 33: 683-686.
- Baylis M. and McIntyre, M. Scrapie under new strain. *Nature*, 432:810-811.
- Dawson, M., Hoinville, B., Hosie, B.D., Hunter, N. (1998). *Vet. Rec.* 142: 623-625.
- García-Crespo D, Oporto B, Gomez N, Nagore D, Benedicto L, Juste RA, Hurtado A. (2004). *Vet Rec.* 154: 717-722.
- Hunter, N. (1997) *Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. The genetics of sheep*. Ed. L. Piper and A. Ruvinsky. CAB International.
- Palhière, I., Francois, D., Elsen, J.E., Barillet, F., Amigues, Y., Perret, G., y Bouix, J. (2002) *7th WCGALP*, 33: 655-657.
- Syvanen AC. (1999). *Hum. Mutat.*, 13: 1-10.

## **PROLIFICIDAD Y SELECCION POR GENOTIPO *PrP* EN RASA ARAGONESA.**

Ponz, R.; Tejedor, M. T.; Monteagudo, L. V. y Arruga, M. V.  
Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular, Facultad de Veterinaria, C/ Miguel  
Server, 177, 50.013 Zaragoza.

### **INTRODUCCION**

El scrapie ovino es una enfermedad perteneciente al grupo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET), que se caracterizan por la acumulación de una proteína príon celular modificada ( $PrP^{SC}$ ) en el Sistema Nervioso Central. Una serie de estudios previos han confirmado que la susceptibilidad al scrapie está asociada con el polimorfismo del gen de la proteína príon ovina (*PrP*), de forma que los animales portadores de la variante alélica *ARR* son resistentes a la infección por scrapie, mientras que el alelo *VRQ* está asociado con una alta susceptibilidad a este proceso (Hunter et al., 1996; Dawson et al., 1998; Elsen et al., 1999). En la Unión Europea se han desarrollado recientemente programas de control del scrapie, implementados en el Reino Unido y subsecuentemente en todos los estados miembros de la Unión Europea, basados en la cría selectiva para la resistencia al proceso. Su objetivo es la eliminación de los portadores del alelo *VRQ* y el incremento de la frecuencia del alelo *ARR*, mediante la selección de portadores del mismo para la reproducción. Nuestro laboratorio comenzó el genotipado para el locus *PrP* en la Raza Aragonesa en el año 2000 (Ponz et al., 2001), mientras que el programa oficial de erradicación de alelos sensibles en todas las razas ovinas no comenzaría en España hasta el año 2003, momento en que la resistencia al scrapie fue introducida como un carácter adicional en los esquemas de selección.

Desde 1990, la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Selecto de la Raza Rasa Aragonesa (ANGRA) está llevando a cabo un esquema de selección para la mejora de la prolificidad; la inclusión del genotipo *PrP* en dicho esquema reducirá el número de machos candidatos a la selección. Por otra parte, el efecto positivo o negativo de la selección por el genotipo *PrP* sobre la prolificidad resulta desconocido hasta el momento. Por esta razón, nuestro equipo ha llevado a cabo un estudio preliminar sobre la posible asociación entre el genotipo *PrP* y la estimación del valor genético (EBV) para la prolificidad en los reproductores.

### **MATERIAL Y METODOS**

El genotipado para el locus *PrP* de 4.323 individuos (1.258 moruecos y 3.065 ovejas) fue realizado en el Laboratorio central Veterinario de Algete (Madrid), dentro del Programa de Genotipado de Razas Puras del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Todos ellos habían nacido antes de 2004. Los valores genéticos para el carácter prolificidad se obtuvieron a partir de los resultados del programa de Valoración de Sementales del esquema de selección genética de ANGRA, mediante metodología Bayesiana y muestreo de Gibbs, asumiendo un modelo umbral (Altarriba et al., 1998).

Los análisis de asociación se realizaron mediante el uso del paquete estadístico SSPS v11 (SPSS Inc., Chicago, Illinois), empleando el Modelo Lineal General. Se consideró como variable dependiente ( $Y_{ij}$ ) el valor genético (EBV) ponderado por la precisión de la estimación, para corregir las diferencias en cantidad de información por individuo (análisis de mínimos cuadrados ponderados). Se

utilizaron dos modelos. En el primero de ellos, los genotipos individuales se consideraron como un factor, de modo que:

$$Y_{ij} = \mu + G_j + e_{ij}$$

donde  $Y_{ij}$  es EBV (ponderado por la precisión) para cada individuo  $i$ ,  $\mu$  es una constante,  $G_j$  es el genotipo *PrP* individual  $j$  ( $j = ARR/ARR$ , etc...) y  $e_{ij}$  es el error aleatorio.

En el segundo modelo, el número de alelos *ARR*, *AHQ*, *ARQ*, *ARH* y *VRQ* en cada genotipo individual se consideró como factor, de modo que:

$$Y_{ij} = \mu + A_{jk} + e_{ij}$$

donde  $Y_{ij}$  es EBV (ponderado por la precisión),  $\mu$  es una constante,  $A_{jk}$  es el número  $k$  ( $k = 0, 1$  ó  $2$ ) de un alelo *PrP* ( $j = ARR, AHQ, ARQ, ARH$  ó *VRQ*) y  $e_{ij}$  es el error aleatorio.

La significación estadística de estos factores se verificó mediante el test de  $F$ . Los valores de  $\eta^2$  permitieron la estimación de la asociación entre el factor considerado y el EBV.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Basándonos en el primer modelo, no encontramos ninguna asociación entre EBV y genotipo *PrP* ( $F = 1,163$ ,  $p = 0,297$ ).

La tabla 1 muestra el valor genético medio (EBV medio) para el número de alelos (0, 1 ó 2) en cada genotipo individual. Estos valores se usaron como base para el segundo modelo, donde sólo se obtuvo un valor significativo de  $F$  para el alelo *VRQ*, aunque el valor de la asociación entre *VRQ* y EBV fue pequeño, como demuestra el bajo valor de  $\eta^2$  (ver tabla 1).

**Tabla 1.** EBV medio con su error estándar (e.e.) para el número de alelos en cada genotipo (NA), efectivo en cada situación (N) y valores del test de  $F$  y de  $\eta^2$  para cada alelo. (\*:  $p < 0,05$ ).

Alelo	NA	N	EBV medio+e.e.	F	$\eta^2$
<i>ARR</i>	0	2.876	33,603+0,867	1,084	0,001
	1	1.298	34,554+0,300		
	2	149	34,903+0,324		
<i>AHQ</i>	0	4.124	33,686+0,468	0,138	0,000
	1	196	34,612+1,702		
	2	3	33,841+2,911		
<i>ARQ</i>	0	269	33,509+0,874	1,648	0,001
	1	1.609	34,854+0,156		
	2	2.445	34,641+0,077		
<i>ARH</i>	0	4.211	34,017+0,622	0,024	0,000
	1	108	33,849+1,451		
	2	4	33,579+2,076		
<i>VRQ</i>	0	4.093	34,504+0,592	3,633*	0,002
	1	227	33,829+1,531		
	2	3	27,878+2,040		

Quando se compararon los EBV para portadores y no portadores de *VRQ*, sólo se encontraron diferencias significativas para individuos *VRQ/VRQ* (diferencia media de EBV con respecto a los no portadores de *VRQ* =  $5,717 \pm 2,124$ ,  $p = 0,007$ ).

Así pues, sólo se ha detectado una ligera asociación entre el genotipo *VRQ/VRQ* y un menor EBV para prolificidad. Como se ha indicado anteriormente, este genotipo es el más sensible al scrapie, de forma que su eliminación es uno de los objetivos de la selección basada en el genotipo *PrP*.

El genotipo *VRQ/VRQ* es muy raro en raza Aragonesa y los tres individuos que lo portan muestran un bajo EBV medio (ver tabla 1). Esta estimación puede ser sesgada, debido a la baja frecuencia del genotipo. De hecho, cuando estos homocigotos se excluyeron del análisis, desapareció la asociación entre *VRQ* y EBV.

Bonnet et al. (2004) no encontraron asociación significativa entre el genotipo *PrP* y la fertilidad de los machos en la raza Lacaune. Sin embargo, Brandsma et al. (2004) detectaron una asociación significativa de dicho genotipo con el EBV para tamaño de la camada y el peso a los 135 días en la raza Texel; la selección de machos *ARR/ARR* tenía un pequeño efecto positivo sobre el tamaño de camada y un pequeño efecto negativo en peso a los 135 días, mientras que el alelo *VRQ* fue asociado con mayores EBV en ambos caracteres. Estos resultados podrían deberse a la selección simultánea para ambos caracteres ejercida desde 1996, que incrementó el EBV medio y la frecuencia del alelo *ARQ*, mientras que la frecuencia de *VRQ* permanecía estable.

Las diferencias en el manejo de las razas Texel y Rasa Aragonesa podrían explicar las diferencias mostradas en la asociación de alelos *PrP* con caracteres productivos. En Rasa Aragonesa, la selección para mejora de la prolificidad comenzó en 1990, pero la selección por genotipo *PRP* no se inició hasta 2003. Todos los animales incluidos en este estudio nacieron antes de 2004, por lo que no se vieron afectados por esta selección. Por otra parte, la selección natural a favor de los genotipos *PrP* resistentes al scrapie puede ignorarse, dado que los casos de este proceso son muy raros en Rasa Aragonesa.

En conclusión, la selección a favor del alelo *ARR* no parece causar un efecto negativo directo sobre el EBV para prolificidad en Rasa Aragonesa. Sin embargo, debido a la baja frecuencia de este alelo (ver tabla 1), la intensidad de selección podría ser muy elevada y, en consecuencia, el progreso genético para los rasgos productivos podría verse afectado. Por otra parte, esta situación podría incrementar los niveles de consanguinidad. Además, Altarriba et al. (2004) sugieren que la selección sobre alelos del locus *PrP* podría tener importantes efectos sobre el genoma completo, especialmente para los loci del cromosoma 13, donde se localiza el locus en cuestión (efecto autostop). La prolificidad es un carácter productivo influenciado por muchos loci desconocidos, de forma que el efecto autostop creado por la selección sobre el locus *PrP* podría tener consecuencias inesperadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Altarriba, J., Varona, L., García-Cortés, L.A., Moreno, C., 1998. *J. Anim. Sci.* **76**, 23–28.
- Altarriba, J., Moreno, C., Díaz, C., Serrano, M., 2004. *Proceedings of the XII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal*, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Spain
- Bonnet, E., Elsen, J.M., Vitezica, Z.G., Bodin, L., 2004. *Proceedings of the XII Reunión Nacional de Mejora Genética Animal*, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Spain.
- Brandsma, J.H., Janss, L.L.G., Visscher, A.H., 2004. *Livest. Prod. Sci.* **85**, 59–64.
- Dawson, M; Hoinville, L.J.; Hosie, B.D.; Hunter, N., 1998. *Vet. Rec.* **142**, 623-625.
- Elsen, J.M., Amigues, Y., Schelcher, F., Ducrocq, V., Andreoletti, O., Eychenne, F., Tienkhang, J.V., Poivey, P., Lantier, F., Laplanche, J. L., 1999 *Arch. Virol.* **144**, 431-45.
- Hunter, N., Foster, J., Goldmann Stear, M.J., Hope, J., Bostock, C., 1996. *Arc. Virol.* **141**, 809-824.
- Ponz, R., Monteagudo L.V., Arruga, M.V., 2001. *Proceedings of the XXVI Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, Sevilla, Spain.



## **APLICACIÓN DE MICROSATÉLITES EN LA IDENTIFICACIÓN GENÉTICA DE REPRODUCTORES Y EN EL ESTUDIO DE PARENTESCO EN POBLACIONES PORCINAS DE SELECCIÓN DE LAS RAZAS PIETRAIN Y DUROC**

DELGADO<sup>1</sup> R., TORRENTO<sup>1</sup> N., TRILLA<sup>1</sup> N., COLLELL<sup>2</sup> E., BALLESTER<sup>2</sup> J., TIBAU<sup>1</sup> J.

<sup>1</sup>IRTA - Centro de Control Porcino. Monells 17121 (Girona)

<sup>2</sup>Applus Agroalimentario - Análisis Genéticos Campus UAB 08193 Bellaterra (Barcelona)

### **INTRODUCCIÓN**

El conocimiento de la genealogía es fundamental para la evaluación genética de los reproductores porcinos selectos y un requisito para su registro en los Libros Genealógicos. La filiación de los animales puede verificarse mediante el análisis de las diferencias en marcadores genéticos microsatélites del ADN de los individuos. Estas variantes en el número de secuencias de repeticiones cortas de ADN en tandem se pueden utilizar como marcadores genéticos y pueden analizarse de manera fácil y rápida a partir de una cantidad mínima de material biológico. Cada marcador posee una probabilidad de exclusión de paternidad que se incrementa mediante el uso de un panel de varios marcadores. Esta técnica permite estudiar la variabilidad genética de las poblaciones, la caracterización de distintas líneas o razas y la comprobación de las relaciones de parentesco. El objetivo del estudio es analizar la variabilidad genética en dos poblaciones porcinas de las razas *Pietrain* (Pi) y *Duroc* (Du) utilizando un panel de 14 microsatélites y estudiar las probabilidades de exclusión de paternidades, para poder establecer un panel de marcadores preciso y eficaz para la identificación de individuos y la asignación de relaciones de parentesco entre animales de estas dos razas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han analizado un total de 90 muestras de foliculo piloso pertenecientes a 41 animales *Pi* y a 41 *Du*, todos machos reproductores inscriptos en el Libro Genealógico de Porcino Selecto de la ANPS, de los cuales se han registrado más de 6000 camadas de raza pura. Los 14 marcadores microsatélites seleccionados para realizar el genotipado, localizados en 13 cromosomas, están presentes en el panel de 50 marcadores utilizados por Groenen et al. 2003, en el panel de 27 marcadores recomendados por la F.A.O. (Barker et al., 1998), recomendados por la I.S.A.G. y utilizados para el control de parentesco porcino en Austria (Nechtelberger et al. 2001) y en la República Checa (Putnová et al. 2003).

Se realizó la extracción del ADN con una modificación del protocolo Wizard y el control de calidad y la cuantificación del ADN mediante espectrofotometría. Las amplificaciones de los marcadores se realizó con *PCR*, la separación y visualización de los productos se efectuó con un secuenciador automático ABI *Prism* 3100 y se interpretaron los resultados con el programa *GeneScan*<sup>®</sup> 3.0 (*Applied Biosystems*).

Para el análisis estadístico de la diversidad genética, se calcularan las frecuencias alélicas. Como medidas de diversidad genética se calcularon: a) el número de alelos por *locus* en los 14 *loci* y su valor medio b) los valores de heterocigotia esperada y observada en cada *locus* y su valor medio (calculados a partir de las frecuencias relativas de los alelos, usando la ecuación de Nei, 1987) c) el valor de contenido informativo del polimorfismo (PIC) en cada *locus* y su valor medio, según Botstein et al. (1980) d) la probabilidad de exclusión de paternidad con la ausencia del genotipo de uno de los padres (PE1) y la probabilidad de exclusión de paternidad (PE2)

para cada locus y la probabilidad combinada de exclusión para los 14 *loci* (CPE1 y CPE2) (Jamienson y Taylor, 1997). Todos estos parámetros se calcularon para cada microsatélite y raza utilizando el programa *Cervus*, versión 2.0 (Marshall *et al.*, 1998, Slate *et al.*, 2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se puede observar que el número de alelos detectados en los 14 marcadores ha variado entre 2 y 10 en *Pi* y entre 4 y 13 en *Du*. El valor de la heterocigotía esperada (*He*) permite estimar la diversidad genética, variando esta estimación entre 0.162 y 0.815 en *Pi* y entre 0.142 y 0.850 en *Du*. El contenido informativo del polimorfismo (PIC) es una medida relacionada con la heterocigotía esperada: los valores extremos corresponden a 0.778 y 0.147 en *Pi* y entre 0.824 y 0.135 en *Du*. De los 14 marcadores utilizados, 4 en *Pi* (SW72, S0227, SW951 y S0090) y 3 en *Du* (S0227, SW951 y S0355) se han revelado poco polimórficos, presentando todos valores de *He* inferiores a 0.5 y consecuentemente, probabilidades de exclusión de paternidad muy bajas, pudiendo estos 4 marcadores ser descartados en posteriores estudios de parentesco en estas dos razas.

**Tabla 1** - Número de alelos observados (NA), heterocigotía esperada (*He*) y observada (*Ho*), contenido informativo de polimorfismo (PIC), probabilidad de exclusión de paternidad con la ausencia de lo genotipo de uno de los padres (PE 1) y la probabilidad de exclusión de paternidad (PE 2), para cada *locus* y en las dos poblaciones.

<i>Locus</i>	<i>Pietran</i>						<i>Duroc</i>					
	NA	<i>He</i>	<i>Ho</i>	PIC	PE 1	PE 2	NA	<i>He</i>	<i>Ho</i>	PIC	PE 1	PE 2
<b>S0155</b>	5	0.737	0.750	0.690	0.324	0.505	6	0.726	0.465	0.669	0.302	0.475
<b>SW240</b>	7	0.794	0.700	0.753	0.405	0.584	7	0.603	0.500	0.567	0.210	0.390
<b>SW72</b>	5	0.313	0.225	0.295	0.050	0.171	5	0.774	0.689	0.726	0.362	0.541
<b>S0227</b>	2	0.162	0.175	0.147	0.013	0.078	4	0.267	0.261	0.239	0.035	0.126
<b>S0005</b>	10	0.815	0.778	0.778	0.449	0.624	13	0.850	0.761	0.824	0.524	0.690
<b>S0101</b>	3	0.638	0.400	0.554	0.195	0.342	4	0.577	0.533	0.526	0.175	0.340
<b>SW911</b>	5	0.659	0.750	0.597	0.233	0.398	5	0.719	0.652	0.671	0.304	0.482
<b>SW951</b>	3	0.453	0.475	0.401	0.100	0.231	4	0.377	0.354	0.354	0.073	0.211
<b>S0386</b>	4	0.536	0.512	0.474	0.146	0.289	6	0.511	0.364	0.453	0.135	0.275
<b>S0090</b>	3	0.478	0.458	0.411	0.109	0.236	4	0.689	0.595	0.613	0.242	0.397
<b>SW857</b>	7	0.760	0.757	0.713	0.354	0.533	4	0.610	0.574	0.526	0.189	0.324
<b>S0355</b>	5	0.599	0.487	0.547	0.192	0.358	4	0.142	0.149	0.135	0.010	0.071
<b>SW936</b>	6	0.626	0.513	0.563	0.211	0.369	5	0.683	0.659	0.607	0.238	0.392
<b>SW24</b>	8	0.743	0.718	0.709	0.356	0.542	7	0.779	0.696	0.734	0.379	0.557

En la tabla 2 se presentan los diferentes alelos detectados con los 14 marcadores utilizados. En todos los locus fueron detectados alelos específicos de una o de otra raza, encontrándose en general a baja frecuencia. Sin embargo, es de destacar en *Du* los alelos 152, 114, 239 y 247 presentes en los locus S0155, SW72, S0005 y S0090, y en *Pi* el alelo 251 presente en locus S0355, todos ellos presentando frecuencias superiores a 0.25, por lo que estos marcadores pueden ser utilizados en un panel de marcadores de identificación específica entre animales de las dos razas.

Los valores medios de los parámetros estadísticos de las dos razas (tabla 3) son muy similares. El número total de alelos detectados en *Du* fue superior a *Pi* (78 vs. 73) y

el número medio de alelos en cada locus fue más elevado en *Du* respecto de *Pi* (5.57 vs. 5.29), en cambio los valores medios de la heterocigotia y del PIC fueron prácticamente idénticos. La probabilidad combinada de exclusión de paternidad con la ausencia del genotipo de uno de los padres (CPE1) fue de 97.672% para *Pi* y de 97.854% en *Du*. Teniendo en cuenta la proximidad familiar de los individuos es importante analizar los genotipos de las madres con el fin de alcanzar una probabilidad de exclusión de paternidad mas elevada (99.915% para *Pi* y de 99.920% para *Du*).

El panel 14 microsatélites estudiado se mostró eficaz para el estudio de parentesco en poblaciones porcinas de selección de *Pi* y *Du*. A pesar de ello, es necesario hacer mas estudios con mas animales y razas, con el fin de confirmar los resultados obtenidos y establecer un panel de microsatélites más preciso.

**Tabla 2 - Alelos identificados en *Pietran* y *Duroc* en cada locus ; cromosoma (Cr.)**  
(En negrita = alelos específicos de una raza. \*) = Alelo con frecuencia superior a 0.25)

Locus	Cr.	<i>Pietran</i>	<i>Duroc</i>
S0155	1q	148, 156, 158, 160, 162	152*, 154, 156, 158, 160, 162
SW240	2p	90, 92, 94, 106, 108, 110, 116	90, 92, 94, 106, 108, 110, 112
SW72	3p	98, 100, 106, 108, 110	98, 100, 108, 110, 114*
S0227	4p	226, 250	226, 248, 250, 254
S0005	5q	201, 217, 221, 229, 231, 233, 235, 237, 241, 243	201, 203, 217, 229, 233, 237, 239, 241, 243, 245, 249, 265, 267
S0101	7q	209, 211, 213	207, 209, 211, 213
SW911	9p	157, 161, 163, 167, 169	155, 157, 161, 167, 169
SW951	10q	121, 123, 129	121, 123, 127, 129
S0386	11q	168, 174, 176, 184	166, 170, 172, 174, 176, 184
S0090	12q	241, 243, 245	241, 245, 247*, 249
SW857	14	142, 146, 150, 152, 154, 156, 158	142, 150, 152, 156
S0355	15	247, 251*, 253, 261, 273	247, 249, 263, 267
SW936	15	98, 104, 110, 112, 116, 118	98, 104, 110, 112, 116
SW24	17	93, 95, 99, 101, 107, 109, 113, 117	93, 95, 99, 101, 107, 113, 117

**Tabla 3.- Número total de alelos (NA Total), número medio de alelos por locus (NA/locus), Heterocigotia media (Het. media), media del contenido informativo del polimorfismo (PIC medio), probabilidad combinada de exclusión en ausencia del genotipo de uno de los padres (CPE 1) y la probabilidad combinada de exclusión (CPE 2).**

Razas	NA Total	NA/Locus	Het. media	PIC medio	CPE 1	CPE 2
<i>Pietran</i>	73	5.29	0.594	0.545	0.976720	0.999150
<i>Duroc</i>	78	5.57	0.593	0.546	0.978540	0.999205

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barker J.S.F., W.G. Hill, D. Bradley, M. Nei, R. Fris & R.K. Wayne. 1998. FAO Rome.
- Groenen M.A.M., R. Joosten, M-Y Boscher, Y. Amigues, A. Rattink, B. Harlizius, J.J. Van der Poel & R. Crooijmans. 2003. Arch Zootech. 52:145-155
- Marshall TC, Slate, J, Kruuk, LEB & Pemberton, J.M. 1998 Molecular Ecology. 7:639-655
- Nechtberger D., Kaltwasser C., Stur I., Meyer J.-N., Muller M., Muller S.. 2001 Animal Biotechnology. 12(2):141-144
- Putnová L., A. Knoll, V. Dvoák, J. Dvoák. 2003. Czech J. Anim Sci. 48 (8) 307-314
- Slate J, Marshall, TC & Pemberton, JM (2000), J. et al. 2000. Molecular Ecology 9: 801-808.

## **ANÁLISIS MITOCONDRIAL DEL JABALÍ Y DE RAZAS PORCINAS EUROPEAS, AFRICANAS Y AMERICANAS**

Oscar Ramírez <sup>1</sup>, Anna Tomàs <sup>1</sup>, Alex Clop <sup>2</sup>, Ofelia Galman-Omitogun <sup>3</sup>, Stanley Marshall Makuza <sup>4</sup>, José Manuel Cadillo <sup>5</sup>, Lucía Kelly <sup>6</sup>, Miguel Pérez-Enciso <sup>1,7</sup> y Marcel Amills <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193, Spain;

<sup>2</sup>Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, 4000 Liège Belgium;

<sup>3</sup>Department of Animal Science, Faculty of Agricultura, Obafemi Awolowo University, Ile-Ife-Nigeria;

<sup>4</sup>Department of Animal Science, University of Zimbabwe, MP 67 Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe;

<sup>5</sup>Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna 38200, Spain; <sup>6</sup>Departamento de Biología

Celular y Molecular, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo 11600,

Uruguay; <sup>7</sup>Institut Català de Recerca i Estudis Avançats, Barcelona, Spain.

### **INTRODUCCIÓN**

El jabalí (*Sus scrofa*), especie de la cual procede el cerdo doméstico, posee una distribución geográfica muy cosmopolita, que incluye la práctica totalidad de Eurasia y el norte de África. Se ha descrito un mínimo de 16 subespecies, de las cuales dos son exclusivamente europeas, dos eurasiáticas, once asiáticas y una africana (Ruvinsky & Rothschild 1998). El proceso de domesticación del cerdo en el Creciente Fértil y en China se produjo aproximadamente hace unos 9.000 años, de forma independiente y a partir de poblaciones locales de jabalíes europeas y asiáticas (Giuffra *et al.* 2000). Se ha puesto de manifiesto la existencia de una clara diferenciación entre los haplotipos mitocondriales asiáticos y europeos, habiéndose estimado entre 58.000 y 900.000 años el tiempo de divergencia (Giuffra *et al.* 2000; Okumura *et al.* 2001; Kijas & Andersson 2001; Kim *et al.* 2002; Alves *et al.* 2003). Sin embargo, se ha demostrado la existencia de haplotipos asiáticos en razas de cerdo doméstico europeas (Giuffra *et al.* 2000; Okumura *et al.* 2001; Kim *et al.* 2002; Alves *et al.* 2003; Clop *et al.* 2004). Ello probablemente se deba al proceso de introgresión de razas asiáticas que tuvo lugar durante los siglos XVIII-XIX con la finalidad de incrementar el engrasamiento y la precocidad sexual de las razas europeas. A pesar de que las razas europeas y chinas se han caracterizado a nivel mitocondrial de forma muy extensa, aún no se dispone de información sobre las razas porcinas sudamericanas y africanas. La caracterización genética de poblaciones de jabalíes eurasiáticas es también bastante limitada a pesar de su gran importancia para comprender el proceso de domesticación del cerdo. Por ejemplo, aún no se ha estudiado ninguna de las poblaciones de jabalíes localizadas en la región del Creciente Fértil a pesar de que es uno de los dos centros de domesticación del cerdo. En el trabajo que se describe a continuación hemos abordado ambas cuestiones.

### **MATERIAL Y METODOS**

#### *Material Animal*

Se realizaron extracciones de DNA a partir de muestras tejido o de pelo correspondientes a 35 jabalíes y 86 cerdos domésticos. Los jabalíes procedían de poblaciones de España (N = 5), Bélgica (N = 11), Turquía (N = 12) y Túnez (N = 7). En cuanto al cerdo doméstico, se caracterizaron diversas razas europeas, Piértrain (N = 2), Large White (N = 2), Landrace (N = 2), Duroc (N = 1), Ibérico (N = 2), Canario (N = 9) y Mallorquín (N = 11); asiáticas, Meishan (N = 16) y Vietnamita (N = 3); sudamericanas, criollas de Perú (N = 9) y Nicaragua (N = 5) y cerdo Pampa de Uruguay (N = 7); y africanas, esto es criollas de Benin (N = 4) y Nigeria (N = 9) y la raza Mukota de Zimbabwe (N = 4). Las extracciones de DNA de pelo se realizaron mediante el protocolo descrito por Pfeiffer *et al.* (2004).

### *Análisis del DNA mitocondrial*

Se ha amplificado un fragmento de 1248 pb que abarca la totalidad del gen del citocromo B (*CytB*) mediante los dos pares de oligonucleótidos descritos por Alves *et al.* 2003. Asimismo se ha realizado la amplificación de un fragmento de 1054 pb de la región control (D-loop) mediante los primers SscDloopF 5'-CAA CCA AAA CAA GCA TTC CA-3' y SscDloopR 5'-GAT TGT GGG CGT ATG CTT AAA-3'. Ambos oligonucleótidos fueron diseñados mediante el *software* Primer 3 empleando como molde la secuencia del DNA mitocondrial porcina con número de acceso de Genbank: AJ002189. En ambos casos las condiciones de la amplificación fueron 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 μM dNTPs, 0.5 μM de cada *primer*, unos 80 ng de DNA y 0.5 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 20 μl. El perfil térmico fue de 94 °C-1 min, 66 °C-1 min, 72 °C-1 min durante 35 ciclos y un ciclo final de extensión a 72 °C- 10 min. Los productos amplificados fueron purificados con el Concert™ Rapid PCR Purification System (GIBCO BRL) y se realizó la secuenciación directa de los mismos mediante el ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (version 3.1). Las reacciones de secuenciación se analizaron en un aparato de electroforesis capilar ABI PRISM 3730.

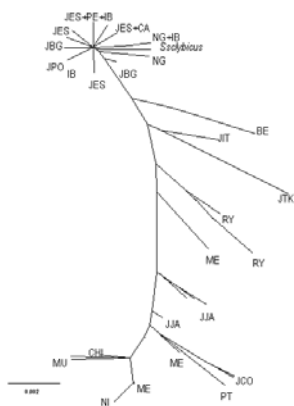
### *Análisis filogenético*

Se ha analizado un fragmento de 464 pb de la región D-loop en 102 individuos (13 de las secuencias analizadas fueron obtenidas en GenBank). Igualmente se ha analizado un fragmento de 895 pb del gen *CytB* en 126 individuos (47 secuencias fueron extraídas de Genbank).

Los árboles filogenéticos se han construido mediante el método de agrupamiento *Neighbor-Joining* (Saitou & Nei, 1987), empleando el paquete informático MEGA versión 2.1 (Kumar *et al.* 2001). El análisis se llevó a cabo empleando la distancia de Kimura de dos parámetros (Kimura 1980) y un análisis *bootstrap* con 1.000 réplicas.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los árboles filogenéticos obtenidos mediante el análisis de *CytB* y D-loop presentan una topología similar: se observa una clara separación entre haplotipos europeos y asiáticos, y asimismo, los haplotipos asiáticos presentan una mayor diversidad genética que los haplotipos europeos. Aun así, cabe destacar que en cuanto a los haplotipos europeos se diferencian claramente los cerdos de Benin (BE), así como los jabalíes italianos (JIT) y los turcos (JTK). El análisis de poblaciones turcas y tunecinas tiene un interés especial puesto que, debido a la ausencia de ganado porcino con el que hubieran podido mezclarse, puede asumirse que son descendientes de las poblaciones ancestrales de jabalí que habitaron el Creciente Fértil, uno de los dos centros geográficos del proceso de domesticación (Bruford *et al.* 2003), y el Norte de África, respectivamente. Cabe destacar que las secuencias mitocondriales de los jabalíes turcos, a diferencia de las de los jabalíes tunecinos, forman un clúster muy diferenciado y relativamente próximo al clúster de haplotipos asiáticos del que, sin embargo, no forman parte. Este hecho concuerda bien con su posición geográfica, a medio camino entre Europa y Asia. En todas las poblaciones de jabalíes analizadas se ha observado exclusivamente el haplotipo E1 descrito por Giuffra *et al.* 2000, que también es el más frecuente en razas porcinas europeas



	N	E1 (TGCG)	E2 (TGTG)	A1 (CATA)	A2 (CATG)	A3 (TATG)
JTZ	7	7	-	-	-	-
JTK	12	12	-	-	-	-
JBG	12	12	-	-	-	-
JES	6	6	-	-	-	-
NG	10	10	-	-	-	-
MU	4	1	-	2	-	1
BE	3	3	-	-	-	-
PE	8	8	-	-	-	-
NI	6	-	-	6	-	-
UR	6	6	-	-	-	-

Tabla 1. Distribución de los haplotipos europeos (E1, E2) y asiáticos (A1, A2 y A3) descritos por Giuffra *et al.* 2000. Las abreviaturas de las poblaciones son las mismas que en la Figura 1. JTZ: Jabalí tunecino

Figura 1. Árbol filogenético NJ de las secuencias del gen *CytB* donde se muestran las principales agrupaciones entre las diferentes poblaciones de jabalíes: belga (JBG), coreana (JCO), española (JES), italiana (JIT), turca (JTK) japonesa (JJA), polaca (JPO), de las islas Ryukyu (RY) y cerdo doméstico de Perú (PE), Nicaragua (NI), Pampa de Uruguay (UR), Nigeria (NG), Benin (BE), Mukota de Zimbabwe (MU), Canario (CA), Ibérico (IB), Piétrain (PT), Meishan (ME) y otras razas chinas (CHI).

En el caso de los cerdos criollos, descendientes de las poblaciones porcinas traídas por los conquistadores españoles y portugueses a partir del s. XV, todos presentan el haplotipo europeo E1, a excepción de los nicaragüenses que presentan el A1. La elevada frecuencia del haplotipo E1 en las razas criollas concuerda con los análisis de DNA mitocondrial realizados en las distintas estirpes de cerdo Ibérico (Alves *et al.* 2003), de las cuales, probablemente, descenden. La presencia del haplotipo A1 en el cerdo nicaragüense se podría explicar por el hecho de que en la formación de esta raza hayan intervenido razas chinas, tal como se ha documentado en el cerdo Cuino de México. En el caso de las razas africanas, los cerdos de Benin y de Nigeria presentan el haplotipo E1 a pesar de que en estos últimos se ha documentado la existencia de una fuerte y reciente introgresión con razas europeas, como Large White, en las que los haplotipos asiáticos son frecuentes. En los cerdos de raza Mukota se han observado tres haplotipos diferentes E1, A1 y A3. Es probable que los haplotipos asiáticos fueran introducidos por los europeos, principalmente británicos, que llegaron al Zimbabwe actual en el siglo XIX, una vez ya finalizado el proceso de introgresión de las razas asiáticas en las razas europeas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves *et al.* 2003. *Anim. Genet.* 34: 319-324.  
 Bruford *et al.* 2003. *Nature Reviews* 4: 900-910.  
 Cloup *et al.* 2004. *Genet. Sel. Evol.* 36: 97-114.  
 Giuffra *et al.* 2000. *Genetics* 154: 1785-1791.  
 Kijas *et al.* 2001. *J. Mol. Evol.* 52: 302-308.  
 Kim *et al.* 2002. *Anim. Genet.* 33:19-25.  
 Kimura. 1980. *J Mol Evol* 16: 111-120.  
 Kumar *et al.* 2001. *Bioinformatics* 17: 1244-5.  
 Pfeiffer *et al.* 2004. *Forensic Sci. Int.* 141: 149-151.  
 Ruvinsky and Rothschild. 1998. *The Genetics of the Pig*, pp.1-16.  
 Saitou and Nei. 1987. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.

Gracias a Annick Linden, Maria Misericòrdia Ramón, José Luis Noguera, Youssao AK Issaka y a Ay-Fi Safaris, por ceder muestras para este trabajo.

## **ESTIMACIÓN DE LA RESPUESTA A LA SELECCIÓN POR TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO DE CARNE EVALUADA EN HEMBRAS CRUZADAS**

M. Baselga, J.P. Sánchez

Dep. de Ciencia Animal, UPV, Camino de Vera s/n 46022 Valencia

[mbaselga@dca.upv.es](mailto:mbaselga@dca.upv.es), [juansan@dca.upv.es](mailto:juansan@dca.upv.es)

### **Introducción**

Los programas de mejora genética de la prolificidad en conejo se basan en la selección intra-línea por algún criterio relacionado con la productividad numérica, típicamente tamaño de camada al nacimiento o destete, y en el cruzamiento de animales de dos líneas seleccionadas por estos criterios. Así se aprovechan los efectos de heterosis que se manifiestan en los animales cruzados y se disipa la consanguinidad acumulada durante el proceso de selección intra-línea (Brun y Saleil, 1994; Nofal y col., 1996; Baselga y col., 2003)

En diversos programas de selección de líneas maternales de conejo se ha evaluado la respuesta a la selección intra-línea, utilizando poblaciones control propiamente dichas (Rochambeau y col., 1998; Tudela y col., 2003), o por comparación coetánea de dos generaciones distantes (García y Baselga, 2002 a y b). En este último caso los animales de la generación más antigua procedían de la descendencia de embriones congelados, posteriormente transferidos a hembras receptoras (Vicente y col., 2003).

Existen pocas experiencias en conejo que hayan evaluado cómo la respuesta obtenida en las líneas maternales se transfiere a las hembras cruzadas. Únicamente, Tudela y col. (2003) y Costa y col. (2004) han evaluado dicha respuesta comparando hembras cruzadas. En ambos casos, de una de las líneas sólo se utilizaba la generación actual y de la otra línea se utilizaban dos generaciones distantes. Además, en ambos casos la experiencia se realizaba en una sola granja, en condiciones más próximas a una estación experimental que a condiciones de campo.

En el presente trabajo se pretende evaluar la respuesta a la selección de líneas maternales, en las correspondientes hembras cruzadas, involucrando generaciones separadas en las dos líneas y en condiciones próximas a las de campo.

### **Material y Métodos**

En este experimento participaron tres granjas, en las que se alojaron las hembras cruzadas de las líneas maternales A (Baselga y col., 1984) y V (Estany y col., 1989), ambas seleccionadas por tamaño de camada al destete. Se compararon dos tipos de hembras cruzadas que llamaremos H1 y H2. Las hembras H1 procedían del cruce de animales A de la generación 16 y V de la generación 17, obtenidos a partir de embriones que en su día se criopreservaron, y las hembras H2 procedían del cruzamiento de animales A de la generación 30 y V de la generación 27. Las hembras H1 representan el tipo antiguo de hembras cruzadas, respecto al cual se comparan las hembras H2 o tipo actual.

Los caracteres estudiados fueron, número de nacidos totales (NT), número de nacidos vivos (NV), y número de destetados a los 28 días de vida (ND).

En este experimento también se estudió el efecto de dos dietas diferentes sobre estos animales, efecto que se incluye en los modelos de análisis, junto con el tipo

genético de las hembras. Para los tres caracteres el modelo fue un modelo animal de repetibilidad, que incluyó entre los efectos fijos un efecto de tipo genético (H1, H2), un efecto de tipo de dieta (L, H) y un efecto combinado granja- orden de parto. Este efecto combinaba 4 niveles (1, 2, 3,  $\geq 4$ ) de orden de parto en dos o tres granjas, pues no todos los caracteres fueron registrados en todas las granjas: NT (2 granjas), NV (3 granjas) y ND (2 granjas).

La estimación se llevó a cabo resolviendo el correspondiente modelo lineal mixto usando el programa PEST (Groeneveld, 1990). Para los componentes de varianza se usaron valores estimados para la línea V en otros trabajos (García y Baselga, 2002a).

## Resultados

La tabla 1 muestra el número de datos, la media, la desviación típica y el máximo y el mínimo para los caracteres estudiados. Puede observarse la elevada prolificidad promedio de las hembras cruzadas y una mortalidad nacimiento destete elevada.

Tabla 1.- Estadísticos descriptivos de las tres variables estudiadas: NT, NV y ND.

	n	Media	S.D.	Min.	Max.
NT	1218	10.61	3.02	1	21
NV	1770	9.43	3.11	0	19
ND	1040	7.89	2.36	0	13

NT, nacidos totales; NV, nacidos vivos, ND, número de destetados por camada.

La tabla 2 muestra los resultados de los contrastes entre los dos tipos de hembras para cada uno de los tres caracteres estudiados.

Tabla 2.- Contrastes (errores típicos) entre la hembra cruzada actual (H2) y la antigua (H1), para NT, NV y ND.

	NT	NV	ND
H2-H1	1.33(0.27)*	1.23(0.23)*	0.70(0.20)*

\*, p-value <0.001; NT, nacidos totales; NV, nacidos vivos, ND, número de destetados por camada.

Dado que la diferencia media entre las generaciones de las líneas A y V que originaron las hembras H1 y H2 es de 12 generaciones, las respuestas por generación serán para NT de 0.11, para NV de 0.10 y para ND de 0.06 gazapos.

## Discusión

En trabajos previos se ha estimado la respuesta a la selección dentro de línea para las dos líneas involucradas en este trabajo. Las respuestas por generación fueron estadísticamente significativas. En la línea V (García y Baselga, 2002a) fueron, 0.1, 0.095 y 0.085 gazapos para NT, NV y ND y en la línea A (García y Baselga, 2002b), 0.086, 0.082 y 0.085 para los mismo caracteres.

Las respuestas estimadas en nuestro experimento están dentro del rango de valores esperables si se esperase que la respuesta intra-línea se transfiriese a las hembras cruzadas. En NT y NV las respuestas son algo mayores de las esperadas, al igual que ocurrió en el experimento de Costa y col. (2004) para estos caracteres y, también, para ND. En la experiencia de Tudela y col. (2003) el carácter estudiado



fue el número total de nacidos y la respuesta observada en las cruzadas (1.43 gazapos nacidos totales), tras treinta generaciones de selección, fue algo mayor que la esperada de la selección de la línea maternal A1077 (1.12 gazapos). En ambos experimentos esta superioridad se interpreta como el efecto de eliminar la consanguinidad acumulada durante la selección intra-línea de las líneas maternas. En el presente experimento esto no ha sucedido para ND, pensamos que por una anormalmente elevada mortalidad durante la lactación que ha afectado más a las cruzadas actuales, fenómeno que no se observó en el trabajo de Costa y col. (2004). No obstante el valor observado para la respuesta por generación en ND está dentro del rango compatible con la respuesta estimada en las líneas que conforman el cruce.

## **Conclusiones**

En nuestro experimento, la respuesta estimada en animales cruzados, es esencialmente consecuencia de la respuesta obtenida en la selección intra-línea por tamaño de camada al destete de las dos líneas maternas que intervienen en su producción. En general, tiende a ser ligeramente superior a la esperada, tal como se ha visto en otras experiencias, resultado que se interpreta como consecuencia de la disipación, en los individuos cruzados, de la consanguinidad acumulada en el proceso de selección de las líneas maternas.

## **Referencias**

- Baselga M., Blasco A., Estany J. 1984. 3rd World Rabbit Congress, Roma. Vol 1:62-65.
- Baselga M., M.L. García, Sánchez J.P., Vicente J.S., Lavara R. 2003. Anim. Res. 52:473-479.
- Brun J.M., Saleil G. 1994. 6èmes Journées de la Recherche Cunicole, La Rochelle, 1: 203-210
- Costa C., Baselga M., Lobera J., Cervera C., Pascual J.J. 2004. J. Anim. Breed. Genet. 121:186-196.
- Estany J., Baselga M., Blasco A., Camacho J. 1989. Livest. Prod. Sci. 21:67-75.
- García M.L., Baselga M. 2002a. Livest. Prod. Sci. 74:45-53.
- García M.L., Baselga M. 2002b. World Rabbit Science Vol 10 (2) 71-76.
- Groeneveld E., 1990. PEST user's manual. Institute of Animal Husbandry and Animal Behaviour, FAL, Germany.
- Nofal R.Y., Tóth S., Virág G.Y. 1996. Proc. 6<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Toulouse, France, 2:335-339.
- Rochambeau H. de., Duzert R., Tudela F. 1998. Proc. 6<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Armidale, NSW, Australia 26: 112-115.
- Tudela F., Hurtaud J., Garreau H., de Rochambeau H., 2003. 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, Paris.
- Vicente J.S., Viudes-de-Castro M.P., García M.L., Baselga M. 2003. Reprod. Nutr. Dev., 43:137-143.

## ESTUDIO DEL EFECTO DE LA SELECCIÓN DIVERGENTE POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO A LAS 62 HORAS DE GESTACIÓN

Peiró R., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A.

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia  
P.O. Box 22012. 46071 Valencia. Spain

### INTRODUCCIÓN

La selección por capacidad uterina ha modificado la supervivencia embrionaria a las 72-75 horas de gestación (Mocé *et al.*, 2004), pero no a las 25 horas de gestación (Peiró *et al.*, 2004). El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la selección por capacidad uterina en conejos sobre la supervivencia embrionaria a las 62 horas de gestación, en un intento de acotar el momento en el que se inician estas diferencias.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Las hembras pertenecen a la generación 18 de un experimento de selección divergente por capacidad uterina que se realizó durante 10 generaciones y que posteriormente se relajó (Argente *et al.*, 1997). Se utilizaron un total de 43 hembras nulíparas de la línea de alta capacidad uterina (H) y 36 hembras nulíparas de la línea de baja capacidad uterina (L).

Caracteres: Las hembras se sacrificaron a las 62 horas de gestación. Se perfundieron los oviductos y el primer tercio de útero con 5 ml de DPBS (Sigma) suplementado con 0.132 g/l de cloruro cálcico, 0.2% BSA (Sigma) y 0.2 ml de antibiótico (®Penivet 1, Divasa Farmavic). Se registraron la tasa de ovulación (TO), el número de embriones normales (EN), el número de embriones anormales (EA: embriones con fragmentación citoplasmática y/o células desestructuradas y con bordes mal definidos) y el número de ovocitos (OO). Se calculó la tasa de fecundación (TF) como  $(EN+EA)/(EN+EA+OO)$ . Los embriones normales se catalogaron como mórulas tempranas (MT) o mórulas compactas (MC). La catalogación se realizó siempre por el mismo operario.

Análisis estadísticos: El análisis genético se realizó con métodos bayesianos. El único efecto considerado ha sido el efecto de la línea, y se utilizó un prior plano acotado para el análisis. Se asume que todas las variables son normales. Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros desconocidos se estimaron usando muestreo de Gibbs. Se utilizó una cadena de 100.000 iteraciones con un periodo de quemado de 20.000 iteraciones y se guardó una muestra de cada 10 iteraciones para disminuir la correlación entre muestras consecutivas. La convergencia de las cadenas se comprobó utilizando el criterio Z de Geweke.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media bruta para la tasa de ovulación ha sido de 10.54, similar a la obtenida en otras líneas maternas. La tasa de fecundación ha sido elevada (96%) y el número de embriones recuperados es alto (10.12), con un porcentaje bajo de embriones anormales (5%). no existen diferencias entre ambas líneas en el número de embriones anormales.

En la tabla 1 se muestran los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre ambas líneas. Como las distribuciones son simétricas sólo se muestra en la tabla la media de la distribución. En todos los casos el test de Geweke no detectó falta de convergencia y el error de Monte Carlo es pequeño.

**Tabla 1.** Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre la línea de alta capacidad uterina (H) y la de baja capacidad uterina a las 62 horas de gestación.

	TO	TF	EN	EN <sub>TO</sub>	MT
P <sub>Media</sub>	-0.16	0.016	0.45	0.52	-0.168
HPD <sub>95%</sub>	-1.26,0.94	-0.05,0.06	-0.67,1.71	0.18,0.96	-0.37,0.03
P>0	0.40	0.64	0.77	0.99	0.05
MCse	0.010	0.0008	0.009	0.004	0.0019
Z	0.660	0.474	-0.565	1.190	0.312

TO: tasa de ovulación; TF: tasa de fecundación; EN: número de embriones normales recuperados; EN<sub>TO</sub>: número de embriones normales recuperados utilizando la tasa de ovulación como covariable; MT: porcentaje de mórulas tempranas; P<sub>Media</sub>: media posterior de la distribución; HPD<sub>95%</sub>: Intervalo de máxima densidad al 95%; P: probabilidad; MCse: error estándar de Monte Carlo ; Z: Z-score del test de Geweke.

Las líneas no presentan diferencias relevantes en la tasa de ovulación lo que esta de acuerdo con los resultados previos obtenidos en estas líneas (Mocé *et al.*, 2004; Peiró *et al.*, 2004), aunque dado el tamaño muestral el intervalo de máxima densidad al 95% en este experimento es elevado. La diferencia entre la tasa de fecundación de ambas líneas es de 1.6%, y el intervalo de máxima densidad al 95% varia como máximo un 6%, lo que correspondería a menos de 1 óvulo fecundado de diferencia, por lo que consideraremos que no existen diferencias relevantes para la tasa de fecundación entre ambas líneas. En la mayoría de experimentos en conejo, la tasa de fecundación suele ser cercana al 100%, aunque por ejemplo Bolet y Theau-Clément (1994) en una de las dos líneas que estudian obtienen una tasa de fecundación del 85%. A las 62 horas de gestación existe una diferencia de aproximadamente 0.5 embriones recuperados entre ambas líneas. Esta diferencia es relevante dado que a 48 horas no se encuentran diferencias entre ambas líneas y a 72-75 horas esta diferencia es de 0.96 embriones a favor de la línea H (Mocé *et al.*, 2004). La probabilidad de que las diferencias hayan empezado a producirse a las 62 horas es del 99% (P>0=0.99, EN<sub>TO</sub>). Al evaluar el desarrollo embrionario, la línea H tiene por termino medio un 16.8% más de mórulas compactas que de mórulas tempranas, la probabilidad de que la línea H tenga un mayor desarrollo que la línea L es de un 95%. Estas diferencias en el desarrollo embrionario son similares a las obtenidas por Mocé *et al.* (2004) a las 72-75 horas de gestación,

pero aparentemente superiores a las observadas en estas mismas líneas a las 48 horas de gestación (Peiró *et al.* 2004). Todos estos resultados indican que la selección por capacidad uterina parece haber modificado la supervivencia embrionaria a partir de las 48 horas de gestación, a las 62 horas ya se detecta una diferencia relevante (0.5 embriones) que aumenta a las 72-75 horas (0.96 embriones). El efecto de la selección sobre el desarrollo embrionario sí que se detecta ya a las 48 horas pero no a las 25 horas. A las 62 y 72-75 horas, las diferencias son cada vez más importantes a favor de la línea H. Es alrededor de las 48 horas de gestación (8-16 células) cuando en los embriones de conejo se produce la transición materno-zigoto, que es un periodo clave en el desarrollo embrionario ya que el embrión comienza a transcribir su propio genoma de forma activa, dando lugar tanto a ARNm como a ARNr (Kanka, 2003). Actualmente se están realizando estudios sobre los factores (hormonas y proteínas) que influyen en el desarrollo embrionario temprano. Así en conejo, Herrler *et al.* (1998) observan que la secreción de la proteína IGF-I favorece el desarrollo embrionario temprano. En ratón, se ha identificado un gen que modifica la velocidad de las divisiones embrionarias (gen Ped) y aquellos embriones que presentan una mayor velocidad de las divisiones embrionarias tempranas presentan una mayor supervivencia en la última mitad de la gestación (Exley y Warner, 1999).

Existen pocos trabajos que evalúen el al efecto de la selección por tamaño de camada o por alguno de sus componentes sobre la supervivencia de los embriones y desarrollo en las primeras etapas de a gestación. En ratón, se ha observado un incremento del desarrollo embrionario en las líneas seleccionadas por tamaño de camada o por alguno de sus componentes respecto una línea control (Durrant *et al.*, 1980; Al-Shorepy *et al.*, 1992) o respecto a una línea seleccionada para disminuir el tamaño de camada (Moler *et al.*, 1981).

La selección por capacidad uterina parece haber modificado la supervivencia y el desarrollo embrionario en las primeras etapas de la gestación.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Al-Shorepy S.A., Clutter A.C., Blair R.M., Nielsen M.K. 1992. *Biol. Reprod.* **46**:958-963.
- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A., Bolet G. 1997. *J. of Anim. Sci.* **75**:2350-2354.
- Blasco A., Bidanel J.P., Bolet G., Haley C.S. 1993. *Livestock Prod. Sci.* **37**:1-21.
- Bolet G., Theau-Clément M.(1994). *Animal Reproduction Science* **36**:153-162.
- Durrant B.S., Eisen E.J., Ulberg L.C. 1980. *J. Reprod. Fert.* **59**: 329-339.
- Exley G.E., Warner C.M., 1999. *Immunogenetics* **49**: 653-659.
- Herrler A., Frusche A.C., Beier H.M. 1998. *Biol. Reprod.* **59**:1302-1310.
- Kanka J. 2003. *Theriogenology* **59**: 3-19.
- Mocé M.L., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2004. *J. of Anim. Sci.* **82**:68-73.
- Peiró R., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2004. 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress.

## **RESULTADOS PRELIMINARES DE LA PRODUCCIÓN LECHERA EN CONEJAS F2 PROCEDENTES DEL CRUCE DE DOS LÍNEAS DIVERGENTES SELECCIONADAS POR CAPACIDAD UTERINA.**

Argente M.J., Muelas, R., Baena, P.L, Rodríguez, B., García, M.L.

División de Producción Animal. Dpto de Tecnología Agroalimentaria.  
Universidad Miguel Hernández de Elche. Ctra de Beniel km 3,2. Orihuela 03312. Alicante

### **INTRODUCCIÓN**

El estudio de la producción de leche en conejas tiene interés por su relación con otros caracteres maternos como la supervivencia y el peso de la camada al destete. Entre los factores que pueden afectar a la producción lechera de la coneja están los días transcurridos desde el parto, el tamaño de camada y el número de parto (McNitt and Lukefahr, 1990; Sabater et al., 1993; Singh, 1996). En conejos, se debe resaltar que existe escasa bibliografía sobre la relación existente entre el crecimiento de los gazapos con la cantidad de leche ingerida (Lebas, 1970; McNitt and Moody, 1990).

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del tamaño de camada y el orden de parto sobre la producción de leche en hembras F2, procedentes del cruce de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina del experimento de Argente et al. (1997), además, se analiza la relación existente entre la ingestión de leche y el crecimiento en los gazapos de estas hembras F2.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### Animales

Se controló la producción diaria de leche en 24 lactaciones durante 28 días en 18 hembras F2. Estas hembras procedían del cruce de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina durante diez generaciones (Argente et al., 1997). Los animales fueron alojados en las instalaciones de la granja docente y experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández de Elche. El modelo de jaula empleado en estas instalaciones permite mantener separada la camada de su madre tras el parto, a través del cierre de la trampilla del nidal. Los gazapos sólo mamaban una vez al día. Las hembras fueron llevadas al macho, por primera vez, a los 4.5 meses de edad, y las hembras lactantes se presentaban al macho una vez por semana a partir de los 12 días del parto.

#### Caracteres

Se estudio la producción diaria de leche de la coneja (PDL: estimada como la diferencia del peso de la camada antes y después de mamar) y la ganancia diaria de la camada (GDC: estimada como la diferencia entre dos días consecutivos de los pesos de la camada antes de mamar los gazapos).

#### Análisis Estadísticos

Se analizó la evolución temporal de los caracteres PDL y GDC con el siguiente modelo:  $Y_{ijklm} = \mu + TC_i + OP_j + m_{ijk} + b_1 D_{ijkl} + b_2 D_{ijkl}^2 + e_{ijklm}$ . Donde  $\mu$  fue la media general,  $TC_i$  fue el efecto fijo tamaño de camada con dos niveles ( $\leq$  de 5 gazapos al nacimiento y  $>$  de 5 gazapos al nacimiento),  $OP_j$  fue el efecto fijo orden de parto con dos niveles (el primer y segundo parto),  $m_{ijk}$  fue el efecto aleatorio de hembra,  $D_{ijkl}$

fue la covariable número de días transcurridos desde el parto a la toma del dato,  $b_1$  fue el coeficiente de regresión lineal,  $b_2$  fue el coeficiente de regresión cuadrático y  $e_{ijklm}$  fue el error. Se añadió al modelo anterior los términos  $(b_1*TC)_i$  y  $(b_2*TC)_i$  para estudiar la evolución temporal entre los dos niveles del tamaño de camada considerados en este estudio. Concretamente,  $(b_1*TC)_i$  y  $(b_2*TC)_i$  eran las interacciones entre el coeficiente de la regresión lineal y cuadrática con el tamaño de camada, respectivamente. Si las interacciones eran diferentes de cero, significaba que la curva de regresión de las hembras que tenían tamaños de camada menores e iguales a cinco gazapos al parto era diferente a la de las hembras que tenían más de cinco gazapos. También, se estudió la evolución temporal para PDL y GDC entre los diferentes niveles del orden del parto. Finalmente, se analizó la relación entre el crecimiento de los gazapos (GDC) con la ingestión de leche (PDL) utilizando el modelo,  $GDC_{ijklm} = \mu + TC_i + OP_j + m_{ijk} + b_1 PDL_{ijkl} + e_{ijklm}$ . El procedimiento MIXED del SAS fue empleado para realizar todos estos análisis (SAS, 2005).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra la relación cuadrática entre la producción de leche (PDL) y el día de lactación (D) en las conejas F2 procedentes del cruce de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina. En líneas generales, esta curva coincide con las estimadas por otros autores (McNitt and Lukefahr, 1990; Sabater et al., 1993; Singh, 1996). En esta población se observa un efecto del tamaño de camada sobre la curva de lactación; la pendiente en el tramo ascendente y descendente de la curva fue mayor en las hembras con tamaños de camada mayores a cinco gazapos al parto ( $b_1 = 17.13 \pm 0.85$  y  $b_2 = -0.50 \pm 0.03$ ) que en las hembras con tamaños de camada menores o iguales a cinco gazapos al parto ( $b_1 = 7.35 \pm 0.93$  y  $b_2 = -0.17 \pm 0.03$ ). De manera que las hembras con camadas de más de cinco gazapos duplicaron su producción total a los 28 días de lactación frente a las hembras con tamaños de camada menores o iguales a cinco gazapos (4.60 kg vs. 2.02 kg, respectivamente), aunque la producción promedio de leche por gazapo se redujo en torno a un 20% en estas hembras. También, estas hembras tuvieron un mayor pico de producción y lo alcanzaron antes (200,6 g/día en el día 17 post-parto en las hembras con tamaños de camada mayores a cinco gazapos vs. 91,95 g/día en el día 22 post-parto en las hembras con tamaños de camada menores o iguales a cinco gazapos). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por McNitt and Lukefahr (1990), Sabater et al. (1993) y Singh (1996) en lactaciones de 28, 35 y 42 días de duración, respectivamente. Respecto al orden de parto, las hembras F2 de este trabajo mostraron una menor producción lechera en el primer parto. También, Singh (1996) encontró un efecto negativo de las hembras primíparas sobre la producción lechera e incluso, en trabajos con una mayor duración, se ha observado un aumento de la producción de leche a lo largo de los siete primeros partos para descender en partos posteriores (McNitt and Lukefahr, 1990). Sin embargo, la curva de lactación de las hembras F2 en el primer parto no mostró un patrón diferente al del segundo parto.

El crecimiento de los gazapos está estrechamente relacionado con la producción lechera de la madre ( $b_1 = 0.44 \pm 0.02$ , ver Tabla1). Por ello, y en coherencia con la evolución observada para la producción de leche, el crecimiento de la camada (GDC) presenta una relación cuadrática con el día de lactación (Tabla 1); es decir, el crecimiento de los gazapos parece estar limitado por la producción lechera de la

hembra a partir de la tercera semana de vida. También, el tamaño de camada afecta a la curva de crecimiento de la camada; así, la pendiente en el tramo ascendente y descendente de la curva fue mayor en las camadas mayores de cinco gazapos ( $b_1 = 7.14 \pm 0.79$  y  $b_2 = -0.26 \pm 0.03$ ) que en las camadas menores o iguales de cinco gazapos ( $b_1 = 3.46 \pm 0.82$  y  $b_2 = -0.10 \pm 0.03$ ), debido a que la producción de leche es estimulada por el número de gazapos lactantes. El máximo crecimiento se sitúa en torno a los 14 y 17 días en las camadas mayores y menores o iguales a cinco gazapos, respectivamente. Sin embargo, el pico en la producción lechera se alcanza entre 3 y 5 días después. Una penalización del índice de conversión en esos días podría explicar este resultado.

La conclusión de este trabajo sería que el crecimiento de los gazapos parece estar limitado por la producción lechera de la hembra a partir de la tercera semana de vida. Por tanto, podría ser recomendable el suministro de un pienso predestete, especialmente preparado para cubrir las necesidades de los gazapos lactantes, a partir de ese momento.

**Tabla 1. Coeficientes de la regresión lineal ( $b_1$ ) y cuadrática ( $b_2$ ) con su error estándar (ES) para la producción diaria de leche de la coneja (PDL) y la ganancia diaria de la camada (GDC) sobre el número de días transcurridos desde el parto a la toma del dato (D), y de la ganancia diaria de la camada (GDC) sobre la producción diaria de leche de la coneja (PDL).**

Y	X	N <sup>a</sup>	$b_1 \pm ES$	$b_2 \pm ES$
PDL (g/día)	D (días)	662	$12.70 \pm 0.65^{***}$	$-0.35 \pm 0.02^{***}$
GDC (g/día)	D (días)	662	$5.35 \pm 0.58^{***}$	$-0.18 \pm 0.02^{***}$
GDC (g/día)	PDL (g/día)	662	$0.44 \pm 0.02^{***}$	

a: número de datos. \*\*\*:  $P < 0.001$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., M.A. Santacreu, A. Climent, A. Blasco, G. Bolet. 1997. Divergent selection for uterine capacity in rabbits. *J. Anim. Sci.* 75: 2350-2354
- Lebas, F. 1970. Alimentation lactee et croissance ponderale du lapin avant sevrage. *Ann. Zootech. (Paris)* 18 :197.
- McNitt, J.I. and S.D Lukefahr. 1990. Effects of breed, parity, day of lactation and number of kits on milk production of rabbits. *J. Anim. Scie.* 68: 1505-1512.
- McNitt, J.I. and S.D. Moody. 1990. Daily milk intake by rabbit kits. *J. Appl. Rabbit Res.* 13: 176-178.
- Sabater, C., C. Tolosa, C. Cervera. 1993. Factores de variación de la curva de lactación de la coneja. *Archivos de Zootecnia.* 42: 105-114.
- SAS, 2005. SAS/STAT Guide for Personal Computers, Versión 6 Edition. SAS Inst., Inc., Carry, N.C.
- Singh, G. 1996. Genetic and non-genetic factors affecting milk yield of rabbit does under hot semi-arid climate. *World Rabbit Science.* 4(2): 79-83.

## COMPOSICIÓN DE LA CANAL Y DE LA CARNE EN CONEJOS SELECCIONADOS POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

Pascual M., Aliaga S., Pla M.  
Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica.  
P. O. Box 22012, 46071 Valencia

### INTRODUCCIÓN

La producción de carne de conejo se realiza mediante un cruce a tres vías, utilizando como finalizadores machos seleccionados por velocidad de crecimiento. Este trabajo pretende estudiar si esta selección ha afectado a la composición de la canal y de la carne.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 120 conejos procedentes de la línea R (Baselga, 2002), línea sintética seleccionada por velocidad de crecimiento entre las 4 y 9 semanas de vida en la Universidad Politécnica de Valencia. En la generación 7ª de selección se recuperaron y vitrificaron embriones que tras varios años congelados se desvitrificaron y transfirieron a hembras receptoras. La descendencia de los animales procedentes de estos embriones formaron el grupo C (n=60), para evitar así cualquier efecto de la vitricación-desvitrificación. El grupo S (n=60) se formó con descendientes de la generación 21. Los dos grupos crecieron coetáneamente.

A los 63 días de vida, los animales se pesaron y sacrificaron. Tras 24 horas de refrigeración a 3-5°C, las canales se pesaron y disecaron según las normas de la WRSA (Blasco y Ouhayoun, 1996), separándose la cabeza, hígado, riñones, el conjunto de órganos torácicos, obteniendo así y pesando la canal de referencia. Se separó y pesó la grasa escapular y perirrenal y se realizó la disección tecnológica, pesándose las distintas partes obtenidas (brazos, caja torácica, parte central y parte trasera). Se disecó una de las extremidades posteriores para obtener el peso de la carne y del hueso. Se calculó el rendimiento de la canal (canal fría/100/ peso vivo) y el porcentaje de canal de referencia respecto a la canal fría, así como los de la grasa disecable (como suma de la grasa escapular y perirrenal), brazos, caja torácica, parte central y parte trasera respecto a la canal de referencia. Se calculó el ratio carne:hueso de la extremidad posterior disecada y los porcentajes de humedad, proteína y grasa de la carne de la extremidad posterior se determinaron mediante espectroscopia NIR (Pla *et al.*, 2004).

Se estimaron las medias por mínimos cuadrados de cada grupo mediante el programa GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) con un modelo que incluía el grupo como efecto fijo.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto el peso vivo como el peso de las canales fría y de referencia fueron superiores en el grupo S, confirmando el éxito de la selección (tabla 1). Este resultado fue anteriormente obtenido por Larzul *et al.* (2000) y Larzul *et al.* (2001) en un experimento de selección divergente por peso a los 63 días. Sin embargo, en un estudio previo realizado por Piles *et al.* (2000) con esta misma línea, cuando los grupos solo se diferenciaban en 7 generaciones de selección, aunque observaron también diferencias en peso vivo, no



encontraron diferencias en el peso de las canales. Al igual que en los estudios realizados por Piles *et al.* (2000), Larzul *et al.* (2000) y Larzul *et al.* (2001), no se encontraron diferencias en el rendimiento de la canal. Las diferencias entre grupos en peso de la canal de referencia dejan de ser significativas cuando esta canal se expresa como porcentaje respecto a la canal fría.

Tal como obtuvieron Piles *et al.* (2000), la selección no afectó al porcentaje de brazos, caja torácica y parte central respecto a la canal de referencia. El grupo S mostró un menor porcentaje de parte trasera, pero esta diferencia se puede considerar irrelevante desde el punto de vista de la composición de la canal. No se encontraron diferencias en el ratio carne:hueso de la extremidad posterior por lo que considerando que esta relación es un buen predictor de la relación carne:hueso de la canal (Hernández *et al.*, 1996), se puede decir que la selección no afectó a este ratio ni en la extremidad posterior ni en el total de la canal. Estos resultados son coherentes si consideramos que los dos grupos fueron sacrificados a la misma edad, que es aproximadamente el mismo grado de madurez, y según Butterfield (1988), cuando dos grupos de animales se comparan al mismo grado de madurez, la composición de la canal es muy similar.

Tabla 1. Medias, errores estándar (se) y nivel de significación (sig.) del peso vivo, de la canal fría y de la canal de referencia (g), rendimiento de la canal, porcentaje de la canal de referencia respecto a la canal fría, porcentaje de grasa disecable, brazos, caja torácica, parte central y parte trasera respecto a la canal de referencia, ratio carne:hueso de la extremidad posterior y porcentaje de humedad, proteína y grasa de la carne de la extremidad posterior para los grupos C (Control) y S (Selección).

	LSM		se	sig.
	C	S		
Peso vivo	2263	2485	33	***
Peso de la canal fría	1230	1348	21	***
Rendimiento de la canal	54.31	54.14	0.30	ns
Peso de la canal de referencia	983	1075	18	***
Porcentaje de canal de referencia	79.83	79.60	0.25	ns
Porcentaje de grasa disecable	2.16	2.55	0.07	***
Porcentaje de brazos	28.75	29.06	0.16	ns
Porcentaje de caja torácica	12.73	12.41	0.19	ns
Porcentaje de parte central	31.37	31.49	0.15	ns
Porcentaje de parte trasera	37.45	36.75	0.17	**
Ratio carne:hueso	5.47	5.48	0.06	ns
Porcentaje de humedad	74.51	74.22	0.10	*
Porcentaje de proteína	20.97	20.95	0.05	ns
Porcentaje de grasa	2.97	3.20	0.10	†

ns: no significativo; †:  $P < 0,1$ ; \*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$ ; \*\*\*:  $P < 0,001$

El grupo S mostró un mayor porcentaje de grasa disecable de la canal de referencia, mientras Piles *et al.* (2000) observaron un menor contenido de grasa disecable en el grupo seleccionado cuando los dos grupos diferían en 7 generaciones de selección, que se atribuyen a un menor grado de madurez de los animales del grupo S respecto al grupo C en el momento de sacrificio. Sin embargo, según Sánchez *et al.* (2004), tras 14 generaciones de selección se ha aumentado del consumo de pienso del grupo seleccionado respecto al control. En cerdos se ha observado que conforme aumenta el consumo de pienso, tanto la deposición de grasa como la de proteína aumenta, pero por encima de un nivel de ingestión

dado se mantiene constante la deposición de proteína y el consumo extra de pienso se destina a la producción de grasa (Whittemore, 1993). Si este mecanismo se diera también en conejo, el mayor porcentaje de grasa disecable obtenido en el grupo S podría ser debido al mayor consumo de pienso.

El porcentaje de grasa en la carne de la extremidad posterior fue superior en el grupo S, al igual que en el trabajo de Gondret *et al.* (2003), que encontraron un mayor contenido en grasa intramuscular en líneas seleccionadas por alto peso a los 63 días en un experimento de selección divergente. Sin embargo, Piles *et al.* (2000) encontraron un menor contenido de esta grasa en los animales seccionados. No se encontraron diferencias en porcentaje de proteína, y el grupo S mostró un menor contenido en humedad respecto al grupo C, que podría ser debido al mayor porcentaje de grasa del grupo seleccionado.

## CONCLUSIONES

La selección por velocidad de crecimiento ha aumentado no sólo en peso vivo a los 63 días sino también en el peso de la canal fría y de referencia, mientras que no ha afectado al rendimiento de la canal. No ha habido cambios en la mayoría de las partes de la canal estudiadas ni en la relación carne:hueso de la extremidad posterior y, por tanto, del total de la canal. La selección ha incrementado la grasa disecable de la canal y del porcentaje de grasa en la carne de la extremidad posterior.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASELGA M. 2002. Line R (Spain) in rabbit genetic resources in mediterranean countries. Eds. Options méditerranéennes.
- BLASCO A., OUHAYOUN J. 1996. Harmonization of criteria and terminology in rabbit meat research. Revised proposal. *World Rabbit Science* 4(2): 93-99.
- BUTTERFIELD R. 1988. New concepts of sheep growth. Edition University of Sidney. Australia.
- GONDRET F., COMBES S., LARZUL C. 2003. Sélection divergente sur le poids à 63 jours: conséquences sur les caractéristiques musculaires à même âge ou à même poids. *Proceedings of 10<sup>th</sup> Journées Recherche Cunicole*. Paris
- LARZUL C., GONDRET F., COMBES S. 2001. Sélection sur le poids à 63 jours: quelles conséquences pour les caractéristiques bouchères? *Proceedings of 9<sup>ème</sup> Journées Recherche Cunicole*. Paris
- LARZUL C., GONDRET S., GARREAU H., DE ROCHAMBEAU H. 2000. Divergent selection on 63-day body weight in rabbit: preliminary results. *Proceedings of 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress*. Valencia
- HERNÁNDEZ P., PLA M., BLASCO A. 1996. Prediction of carcass composition in the rabbit. *Meat Science* 44: 75-83.
- PILES M., BLASCO A., PLA M. 2000. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science* 54: 347-355.
- PLA M., PASCUAL M., ARIÑO B. 2004. Protein, fat and moisture content of meat of rabbit retail cuts. *World Rabbit Science* 12(3): 149-158.
- SANCHEZ J. P., BASELGA M., SILVESTRE M. A., SAHUQUILLO J. 2004. Direct and correlated responses to selection for daily gain in rabbits. *Proceedings of 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress*. Puebla.
- WHITTEMORE C. T. 1993. The Science and practice of pig production. Edition Longman Scientific & Technical. England.

## MODELOS SEMIPARAMÉTRICOS EN EL ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA APLICADO A LA MEJORA GENÉTICA

J. P. Sánchez

Dep. de Ciencia Animal, UPV, Camino de Vera s/n 46022 Valencia

[juansan@dca.upv.es](mailto:juansan@dca.upv.es)

### Modelos de fragilidad de riesgos proporcionales

Un concepto básico en el estudio de la supervivencia es el del riesgo que se produzca el fenómeno de interés en un momento  $t$ , dado que no se ha producido hasta ese momento y la modelización del mismo es esencial. Los modelos de fragilidad de riesgos proporcionales son una forma muy general de modelizar el riesgo. Su ecuación puede escribirse así:

$$h_i(t) = h_{o,n}(t) \cdot z_i \cdot \exp\{x'_i(t)\beta\} \quad [1]$$

donde  $h_i(t)$  es el riesgo de que se produzca el acontecimiento de interés para cada tiempo  $t$  y para el individuo  $i$ , y se modela como el producto de una función de riesgo base  $h_{o,n}(t)$ , que puede ser única o puede quedar definida de forma distinta para  $n$  subgrupos de la población, y el efecto de unas covariables ( $\beta$ ) que pueden ser dependientes del tiempo, indicadas por  $x'_i(t)$  y un término de fragilidad ( $z_i$ ), que es un término de naturaleza aleatoria que en el contexto de la mejora genética es el que recoge el efecto genético que determina el carácter, aunque puede tener más componentes. Una forma alternativa de presentar este modelo es incluir el término de fragilidad en la parte exponencial ( $z_i = \exp\{u_i\}$ ). Este modelo se dice que es de riesgos proporcionales pues se asume que dentro de un subgrupo  $n$  de la población y en el espacio de tiempo en el que no hay cambios de nivel en la covariables dependientes del tiempo, el ratio de riesgo entre dos individuos afectados por distintos niveles de las covariables se mantendrá constante.

La diferencia entre modelos paramétricos y semi-paramétricos viene dada porque en los primeros la o las funciones de riesgo base son descritas por algún modelo probabilístico que depende de pocos parámetros (Weibull, exponencial, etc) y en los segundos no es así. La flexibilidad de los modelos semi-paramétricos es mayor que la de los modelos totalmente paramétricos pues no están sujetos a ninguna restricción sobre cómo se ha de distribuir la función de riesgo base. Las demandas computacionales para hacer las inferencias a partir de ellos son mayores, de ahí que su uso no esté tan generalizado, y cuando se definen los caracteres a estudiar se hace de manera que algún modelo paramétrico sea adecuado.

En este trabajo se hace una revisión sucinta de los modelos semi-paramétricos aplicados a la mejora genética

### Modelo de COX

El modelo de COX es el método semiparamétrico implementado en el Survival Kit (Ducrocq y Sölkner, 1998). En él la función de riesgo base se mantiene indefinida, esto es posible pues se define una función de verosimilitud que se conoce como de verosimilitud parcial, que no depende de la función de riesgo base, su ecuación es:

$$L_c(y | \beta, u) = \prod_{k \in \{unc.\}} \frac{\exp\{x'_k(t)\beta + u_k\}}{\sum_{j \in R(T_k)} \exp\{x'_j(t)\beta + u_j\}}$$

Donde  $k$  representa a los individuos no censurados, y si no hay repeticiones en los tiempos de muerte darán lugar a  $k$  diferentes tiempos de muerte y  $R(T_k)$  es el grupo de individuos a riesgo en ese tiempo  $k$ . Cuando hay repeticiones en los tiempos de muerte la función de verosimilitud parcial se modifica ligeramente para tener en consideración este hecho.

Esta función de verosimilitud parcial tiene todas las propiedades de cualquier otra función de verosimilitud. La principal justificación para su uso es que si estamos interesados en la estimación del efecto de las covariables o en la predicción de los términos de fragilidad, la información que para ello hay entre dos tiempos de muerte consecutivos es despreciable (Ducrocq, 2001).

Esta función de verosimilitud parcial se puede emplear en enfoques bayesianos para la estimación. En concreto el Survival Kit implementa este enfoque, asumiendo *priors* planos para  $\beta$  y los parámetros de dispersión del término de fragilidad y diferentes *priors* para el término de fragilidad: Gamma, Normal o Normal Multivariante. Sólo es el último el que permite incluir matriz de relaciones de parentesco, por lo que es el más comúnmente empleado cuando se quieren estimar parámetros genéticos o hacer evaluaciones genéticas.

Con la implementación del Survival Kit, si se conocen los parámetros de dispersión, la estimación de los efectos fijos y la predicción de los efectos aleatorios (términos de fragilidad) se hace como la moda de la distribución posterior conjunta condicionada a los parámetros de dispersión del término de fragilidad, el error de estas estimas y predicciones se calcula como el término de la diagonal de la inversa de menos la matriz de segundas derivadas de la distribución posterior conjunta. Cuando no se conocen los parámetros de dispersión del término de fragilidad, este se puede estimar solamente para uno de los componentes del término de fragilidad. La estimación de este parámetro de dispersión se hace sobre la distribución marginal del mismo. La marginalización se hace vía Integración Laplacina (Ducrocq, 2001) y finalmente la estima suele ser la moda de la distribución marginal posterior. Cuando el volumen de datos no es excesivamente grande se puede llegar mediante técnicas de integración numérica a los tres primeros momentos que describen la distribución marginal posterior del parámetro de dispersión, para tener una estima de la incertidumbre de la estimación del parámetro de dispersión y del grado de simetría.

La integración Laplaciana requiere de información concentrada, es decir que es necesario que varios individuos estén afectados por el mismo nivel del efecto del término de fragilidad del que se quiere estimar el parámetro de dispersión. Por lo tanto los modelos animales no son aplicables. En un estudio de simulación (Ducrocq y Casella, 1996) demuestran que incluso usando el modelo macho cuando hay cinco o menos hijas por macho la integración Laplaciana no funciona bien.

En resumen, la principal ventaja de la implementación del modelo de COX en el survival kit es su relativa facilidad y rapidez de cómputo, mientras que su principal inconveniente es que sólo se puede estimar el parámetro de dispersión para un único componente del término de fragilidad y que para esta estimación se recurre a un método aproximado como es la integración Laplaciana que no permite modelos animales.

## Piecewise Constant Hazard Model

En estos modelos inicialmente hay que dividir el eje del tiempo en diferentes segmentos, generalmente esta división se basa en los propios tiempos de muerte, y para cada uno de estos segmentos se asume que el riesgo base es constante, de manera que la función de riesgo base estará definida por una función de escalera con riesgo constante entre dos tiempos de muerte consecutivos. En modelos de este tipo se define una función de verosimilitud completa a la que los diferentes datos contribuirán de manera diferente en función de que sean completos o censurados. En concreto los datos no censurados lo harán con la función de densidad y los censurados por la derecha con la de supervivencia, que se pueden calcular dadas conexiones entre ellas y la función de riesgo que define el modelo [1].

$$L(\beta, u | y) \propto \prod_{i \in \{unc.\}} f(y_i) \cdot \prod_{i \in \{cen.\}} S(y_i)$$

Existe una conexión entre este modelo y el modelo de COX, si la función de verosimilitud completa se factoriza en una parte que dependa de la función de riesgo base, y otra que no lo haga, esta segunda parte corresponderá precisamente a la función de verosimilitud parcial.

Bajo este tipo de modelos la estimación se hace por metodología bayesiana, pero en las aplicaciones que de este modelo hay en mejora genética las marginalizaciones se hacen por métodos MCMC, en concreto se emplea muestreo de Gibbs, y cuando

las distribuciones condicionales tienen formas desconocidas se emplea el Adaptive Rejection Sampling (Gilks y Wild, 1992), para muestrear de ellas.

Existen dos aplicaciones de este modelo en el campo de la mejora genética. En la primera de ellas se emplea este modelo para estudiar el tiempo desde el momento de la entrada en control de crecimiento de terneros de carne hasta que sufren una enfermedad respiratoria. En este primer trabajo los efectos fijos fueron covariables continuas y siempre no dependientes del tiempo (Korsgaard y col., 1998), los *priors* de esta aplicación se asumieron uniformes para los efectos "fijos", Gamma para los componentes de varianza de los cuatro términos del elemento de fragilidad (efecto de rebaño-grupo de origen, efecto genético aditivo, efecto de año-estación y efecto residual), log-normal para el efecto de estos cuatro términos y se asumió el *prior* de Jeffreys para cada uno de los peldaños de la función de riesgo base. En la segunda aplicación de este modelo se estudia la longevidad en conejas de producción cárnica, y se incluyen variables categóricas dependientes del tiempo (Sánchez y col., 2005), los *priors* para los efectos "fijos" fueron uniformes, al igual que para los componentes de varianza de los dos elementos del término de fragilidad (efecto genético aditivo y efecto residual), log-normal para el efecto de estos dos términos e igualmente se asumió el *prior* de Jeffreys para cada uno de los peldaños de la función de riesgo base.

En estas aplicaciones no hay restricciones en el número de componentes de los términos de fragilidad (salvo las marcadas por las posibilidades de los datos de que se disponga) y de hecho siempre se incluye además del efecto genético un efecto residual para modelar efectos individuales de naturaleza no genética que afecten al riesgo de eliminación de los animales. Además la inclusión de este término residual es de vital importancia cuando el modelo no es el modelo animal, pues se fuerza a que sea éste el término que recoja explícitamente la parte de la variación genética no tenida en consideración por los otros efectos del modelo. Por ejemplo en el modelo padre  $\frac{3}{4}$  de la varianza aditiva queda no explicada por el modelo y hay que forzar a que vaya al término residual, por lo tanto la varianza residual debe de ser al menos 3 veces la varianza de macho. Si no existe este término residual y no se impone esta restricción, el modelo macho o cualquier otro modelo que no sea el modelo animal, no tendrá un modelo animal equivalente acorde con las premisas del modelo infinitesimal. Además se pueden obtener resultados sesgados en las evaluaciones genéticas. El efecto de la no inclusión del término residual ha sido estudiado para modelos macho paramétricos por Damgaard y col. (2003), observando sesgos en las estimaciones de los parámetros del modelo y comportamientos inestables en las evaluaciones genéticas de los animales. Ducrocq y Casella (1996) postulan que es un término extra que aparece cuando se hace una transformación log-lineal del modelo, y que se distribuye como una distribución de valor extremo el que implícitamente recoge la parte de la variación genética no considerada por los otros factores del modelo.

El principal inconveniente de estas aplicaciones es su elevada demanda computacional, mientras que sus ventajas son por un lado que se permite el uso del modelo animal y por otro que no hay restricciones en el número de componentes del término de fragilidad a la hora de estimar componentes de varianza.

## Referencias

- Damgaard L.H., Korsgaard I.R., Simonsen J., Dalsgaard O., Andersen A.H., 2003. Books of Abstracts of the 54th Annual Meeting of the EAAP, page 73. Roma, Italy.
- Ducrocq, 2001. Survival Analysis applied to animal breeding and epidemiology. Course notes.
- Ducrocq V. y Casella G., 1996. Genet. Sel. Evol. 28:505-529.
- Ducrocq V. y Sölkner J., 1998. 6th WCGALP 27:447-450.
- Gilks W.R., Wild P., 1992. Appl. Stat. 41 (1992) 337-348
- Korsgaard I.R., Madsen P., Jensen J., 1998. Genet. Sel. Evol. 30:241-256.
- Sánchez J.P., Korsgaard I.R., Damgaard L.H., Baselga M., 2005 (enviado a Genet. Sel. Evol.).

## APROXIMACIONES PARAMÉTRICAS AL ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA MEDIANTE MODELOS DE RIESGOS PROPORCIONALES

**Joaquim Casellas Vidal**

Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments,  
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona).

### INTRODUCCIÓN

El análisis de supervivencia (Allison, 1995) es una herramienta estadística con importantes aplicaciones en el campo de la producción animal. Aunque la longevidad de los animales puede ser considerada como un carácter dicotómico (sobrevive o no a cierta edad), y analizada como tal mediante regresión logística, modelos umbral o una simple comparación de proporciones, la consideración de este carácter como variable continua incrementa la informatividad de nuestros análisis. En este sentido, no tienen las mismas repercusiones productivas ni económicas un cordero que muere al segundo día de vida que otro que muere al mes, mientras que el enfoque dicotómico vivo o muerto al destete, los considera a ambos iguales. Por otro lado, el análisis de supervivencia presenta ventajas destacables en cuanto al manejo de datos censurados, los cuales son muy frecuentes en los sistemas productivos actuales.

Aunque el análisis de supervivencia se desarrolló inicialmente mediante aproximaciones semiparamétricas (Cox, 1972; Prentice y Gloeckler, 1978), los modelos paramétricos (Ducrocq et al., 1998a,b) presentan ventajas importantes en cuanto a tiempo de computación (Ducrocq et al., 2000), si bien requieren que los datos analizados se ajusten a la distribución asumida. En este sentido, esta ponencia se basará en los principios y características del análisis paramétrico de supervivencia, así como sus aproximaciones frecuentistas y Bayesianas.

### DISTRIBUCIONES DE PROBABILIDAD CARACTERÍSTICAS

Las técnicas de análisis de supervivencia se fundamentan en dos distribuciones de probabilidad específicas, las funciones de supervivencia y riesgo. La función de supervivencia  $S(t)$  en el momento  $t$  se define como la probabilidad de que un individuo sobreviva más de  $t$  días (Cox, 1972). Esta función no está descrita para valores de  $t$  negativos, alcanza su máximo en  $t = 0$  [ $S(t = 0) = 1$ ] y decrece hasta 0 cuando  $t \rightarrow \infty$ . Por otro lado, la función de riesgo  $h(t)$  representa la tasa instantánea de muerte en el momento  $t$  condicionada a que el individuo sobreviva más de  $t$  días ( $T > t$ ). La multiplicación de ambas funciones origina la función de densidad  $f(t) = S(t)h(t)$ , de crucial importancia a la hora de analizar la longevidad mediante máxima verosimilitud o aproximaciones Bayesianas.

### RIESGOS PROPORCIONALES Y EFECTOS DEPENDIENTES DE TIEMPO

Si consideramos que la longevidad de un individuo  $i$  está influida por un conjunto de efectos sistemáticos  $\beta$ , podemos considerar nuestras funciones de riesgo y supervivencia según:

$$h(t|\mathbf{x}_i) = h_0(t)e^{\mathbf{x}_i\beta}; \quad S(t|\mathbf{x}_i) = S_0(t)^{\exp(\mathbf{x}_i\beta)}$$

siendo  $\mathbf{x}_i$  el vector de incidencia de  $\beta$ , y  $h_0(t)$  y  $S_0(t)$  las funciones de supervivencia y riesgo bases de nuestra población, las cuales definiremos posteriormente, en función de la distribución paramétrica asumida. Esta reparametrización nos introduce de lleno en los modelos de riesgos proporcionales. Si consideramos dos individuos,  $i$  y  $j$ , el cociente entre sus funciones de riesgo respectivas será:

$$\frac{h_i(t|\mathbf{x}_i)}{h_j(t|\mathbf{x}_j)} = \frac{h_0(t)e^{\mathbf{x}_i\beta}}{h_0(t)e^{\mathbf{x}_j\beta}} = \frac{e^{\mathbf{x}_i\beta}}{e^{\mathbf{x}_j\beta}} = e^{(\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j)\beta} = \text{constante}$$

mantiéndose por tanto la proporcionalidad para cualquier valor de  $t$ . En este sentido, el mismo cociente calculado entre dos efectos sistemáticos  $A$  y  $B$  ( $e^{\beta_A - \beta_B}$ ) caracterizará la razón de riesgo de  $A$  respecto  $B$ , la cual nos indica cuantas veces es más probable que muera un individuo afectado por  $A$  que por  $B$ .

El modelo  $h(t|\mathbf{x}) = h_0(t)e^{x\beta}$  asume que los diferentes efectos fijos considerados influyen de la misma manera a lo largo de toda la vida de los animales. Esto puede ser cierto para efectos como el sexo del animal, la raza o el año de nacimiento, mientras que otras influencias solo afectan durante un periodo de tiempo concreto. Tomemos como ejemplo una camada de lechones, la supervivencia de los cuales se ve influida por un efecto ambiental permanente caracterizado en gran medida por la cerda. Cuando algunos lechones se cambian de camada con el objetivo de homogeneizarlas, el efecto ambiental recibido también cambia. En este sentido, deberemos definir  $h(t)$  y  $S(t)$  distintas para el periodo pre-homogenización (1) y post-homogenización (2), siendo  $t_h$  la edad a la que se intercambian los animales, y  $p_1$  y  $p_2$  los efectos ambientales recibidos durante el periodo 1 y 2 respectivamente (Ducrocq et al., 1988a):

$$\begin{aligned} h_1(t|\mathbf{x}, p_1) &= h_0(t)e^{(x\beta + p_1)}; & S_1(t|\mathbf{x}, p_1) &= S_0(t)^{\exp(x\beta + p_1)} & t \in (0, t_h) \\ h_2(t|\mathbf{x}, p_2) &= h_0(t)e^{(x\beta + p_2)}; & S_2(t|\mathbf{x}, p_2) &= S_0(t)^{\exp(x\beta + p_2)} & t \in (t_h, \infty) \end{aligned}$$

### DISTRIBUCIONES PARAMÉTRICAS UTILIZADAS

Algunas distribuciones paramétricas han sido empleadas repetidamente en la literatura para llevar a cabo análisis de supervivencia, siendo probablemente la distribución exponencial la más simple de todas ellas. Tomando como partida una distribución exponencial de parámetro  $\lambda$ , podremos definir sus funciones de supervivencia y riesgo bases como:

$$h_0(t) = \lambda; \quad S_0(t) = e^{-\lambda t}$$

La característica más importante de esta distribución es que su función de riesgo se mantiene constante a lo largo del tiempo, caracterizando la exponencial como una distribución sin memoria de tiempo (un animal tiene la misma probabilidad de morir a cualquier edad). La distribución Weibull, de parámetros  $\rho$  y  $\lambda$ , es una generalización de la exponencial que ha recibido una atención especial durante los últimos años dada su simplicidad y flexibilidad (Ducrocq et al., 1988a). Sus funciones características son:

$$h_0(t) = \lambda\rho(\lambda t)^{\rho-1}; \quad S_0(t) = e^{-(\lambda t)^\rho}$$

simplificándose a las de una distribución exponencial cuando  $\rho = 1$ . Además de la exponencial y la Weibull, también se han utilizado otras distribuciones como la log-normal, gamma, Rayleigh y Gompertz, aunque en menor medida (Ducrocq, 1987).

### ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA MEDIANTE MÁXIMA VEROSIMILITUD

Dentro del marco de trabajo de los modelos de supervivencia, podemos definir la función de verosimilitud del conjunto de parámetros a estimar como (Cox, 1972):

$$L(\rho, \lambda, \beta) = \prod_i f(y_i) = \prod_i h(y_i)^{\delta_i} S(y_i)$$

siendo  $\delta_i = 0$  si se trata de un dato censurado o  $\delta_i = 1$  si es un registro completo. Asumiendo que nuestros registros se distribuyen siguiendo una Weibull, el logaritmo de la función de verosimilitud tomara la forma (Ducrocq et al., 1988a):

$$\ln L(\rho, \lambda, \beta) = N \ln(\rho) + (\rho - 1) \sum_i \ln(y_i)^{\delta_i} + \sum_i \left[ (x_i; \beta)^{\delta_i} - y_i^\rho e^{x_i \beta} \right]$$

donde  $N$  representa el número de registros a analizar. La maximización de esta función nos proporciona estimaciones máximo verosímiles de los diferentes parámetros del modelo. La ampliación de estos modelos para la estimación de

variables dependientes del tiempo así como efectos aleatorios podemos encontrarla en Ducrocq et al. (1988a,b).

## APROXIMACIÓN BAYESIANA AL ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

Existen múltiples trabajos que abordan la resolución de los modelos de supervivencia mediante aproximaciones Bayesianas (Ibrahim et al., 2001) aunque su aplicación en el campo de la mejora animal ha sido muy escasa. En este sentido, Ducrocq y Casella (1996) plantearon una primera aproximación para la estimación de componentes de varianza, la cual podemos encontrar implementada en el programa Survival Kit (Ducrocq y Sölkner, 1998).

Desde un punto de vista Bayesiano, podemos asumir que la distribución de nuestros datos de supervivencia dados los restantes parámetros del modelo sigue una distribución paramétrica, que asumiremos exponencial para simplificar la notación:

$$p(\mathbf{y}|\lambda, \boldsymbol{\theta}) = \prod_i (\lambda \cdot e^{\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}})^{\delta_i} e^{(-\lambda y_i, \exp(\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}))}$$

donde  $\mathbf{W}$  es la matriz de incidencias de los efectos sistemáticos ( $\boldsymbol{\beta}$ ) y genéticos aditivos ( $\mathbf{a}$ ) representados por  $\boldsymbol{\theta}$ . A partir de aquí, y siguiendo un planteamiento paralelo al de los modelos lineales, podemos definir las siguientes distribuciones *a priori*:

$$p(\mathbf{a}|\mathbf{A}, \sigma_a^2) \sim NMV(\mathbf{0}, \mathbf{A}\sigma_a^2) \quad p(\sigma_a^2|\nu, S^2) \propto \sigma_a^{2\left(\frac{\nu}{2}+1\right)} e^{-\frac{\nu S^2}{2\sigma_a^2}}$$

siendo  $\mathbf{A}$  la matriz de parentescos aditivos, y  $\sigma_a^2$  la varianza genética aditiva. Para los restantes parámetros del modelo podemos definir distribuciones *a priori* uniformes, al igual que para los componentes de varianza si fijamos  $\nu = -2$  y  $S^2 = 0$ . La distribución posterior conjunta será:

$$p(\lambda, \theta, \sigma_a^2, \sigma_p^2 | \mathbf{y}, \nu, S^2) = \sigma_a^{2\left(\frac{q+\nu}{2}+1\right)} \exp\left(-\frac{\mathbf{a}'\mathbf{A}^{-1}\mathbf{a} + \nu S^2}{2\sigma_a^2}\right) \cdot \prod_i (\lambda \cdot e^{\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}})^{\delta_i} e^{(-\lambda y_i, \exp(\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}))}$$

representando  $q$  el número de niveles del efecto genético aditivo. Debemos recurrir a procedimientos de Metropolis-Hastings (Hastings, 1970) para obtener muestras aleatorias de las distribuciones marginales posteriores de  $\lambda$  y  $\boldsymbol{\theta}$  (y  $\rho$  en caso de analizar un modelo Weibull). Por otro lado, el componente de varianza genético se podrá muestrear a partir de una distribución  $\chi^2$  con  $\tilde{\nu} = q + \nu$  grados de libertad y  $\tilde{S}^2 = (\mathbf{a}'\mathbf{A}^{-1}\mathbf{a} + \nu S^2) / \tilde{\nu}$  como parámetro de escala. Para la inclusión de variables dependientes del tiempo deberemos modificar la distribución *a priori* de nuestros datos, tal como se ha definido anteriormente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allison P.D. 1995. Survival analysis using the SAS® system. A practical guide. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Cox D.R. 1972. J. Royal Stat. Soc. Series B 34: 187-220.
- Ducrocq V. 1987. Ph. D. dissertation, Cornell University, Ithaca, NY.
- Ducrocq V., Besbes B., Protais M. 2000. Genet. Sel. Evol. 32: 23-40.
- Ducrocq V., Casella G. 1996. Genet. Sel. Evol. 28: 505-529.
- Ducrocq V., Quaas R.L., Pollak E.J., Casella G. 1988a. J. Dairy Sci. 71: 3061-3070.
- Ducrocq V., Quaas R.L., Pollak E.J., Casella G. 1988b. J. Dairy Sci. 71: 3071-3079.
- Ducrocq V., Sölkner J. 1998. Proc. 6th World Cong. Genet. Applied Livest. Prod., Armidale.
- Hastings W.K. 1970. Biometrika 57: 97-109.
- Ibrahim J., Chen M.H., Sinha D. 2001. Bayesian survival analysis. Springer, NY.
- Prentice R., Gloeckler L. 1978. Biometrics 34: 57-67.



## **EFFECTO DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y DE LA SELECCIÓN POR PROLIFICIDAD SOBRE LA LONGEVIDAD DE CONEJAS REPRODUCTORAS**

P. Theilgaard<sup>a</sup>, J.P. Sánchez<sup>a</sup>, J.J. Pascual<sup>a</sup>, N.C. Friggens<sup>b</sup>, M. Baselga<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Dep. de Ciencia Animal, UPV, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

<sup>b</sup>Dep. of Animal Health, Welfare and Nutrition, Danish Institute of Agricultural Science, P.O. Box 50, DK-8830 Tjele, Denmark

### **Introducción**

La selección continuada para mejorar la prolificidad en conejos ha tenido respuestas positivas, tanto en el número total de conejos nacidos totales por camada, como en el número de nacidos vivos y destetados (García & Baselga, 2002). Como consecuencia del aumento de la presión productiva, las necesidades energéticas de las conejas se han visto también aumentadas. Curiosamente, a pesar de esa mayor demanda, la ingestión durante lactación no se ha visto aumentada de igual modo (Costa *et al.*, 2004), quizás relacionado con una limitación de la capacidad de ingestión en lactación para tamaños de camada altos. En consecuencia se ha sugerido que la mayor demanda energética de las hembras actuales se podría satisfacer a través de una mayor eficacia alimenticia y/o de un cambio en el uso de los recursos energéticos durante la lactación (Quevedo *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2004), incluyendo la producción de leche y la movilización de reservas.

Tanto el tamaño como la movilización de las reservas corporales se han propuesto como factores que pueden influir significativamente sobre la reproducción y productividad de los animales. Por ejemplo, las cerdas que no tienen suficientes reservas corporales sufren un intervalo mayor entre el destete y el estro, y un descenso en la tasa de la ovulación (Zak *et al.*, 1997), y en ratones se ha observado un descenso en la tasa de crecimiento de las crías y una mayor mortalidad antes del destete (Rauw *et al.*, 2003).

Por otra parte, se ha observado, tanto en conejos como en ratones, un aumento del tamaño de las reservas corporales al hacer selección por prolificidad (Quevedo *et al.*, 2005; Rauw *et al.*, 2003). Así, el objetivo de este trabajo es estudiar si este cambio en las reservas corporales, consecuencia de la selección por prolificidad, tiene algún efecto en la longevidad de los animales.

### **Material y Métodos**

En este experimento se incluyeron 166 hembras cruzadas de las líneas A y V del Departamento de Ciencia Animal de la UPV. Ambas líneas son seleccionadas por tamaño de camada al destete. Se compararon dos tipos de hembras cruzadas; uno, que llamaremos "grupo seleccionado", formado por animales del cruce de animales A de la generación 29 y V de la generación 26; y otro, que llamaremos "grupo control", formado por animales que procedían del cruce de animales A de la generación 15 y V de la generación 16. Los animales del grupo control eran descendientes de embriones que en su día se criopreservaron y posteriormente se transfirieron a las hembras que en ese momento existían en la granja. En cada parto el tamaño de camada fue estandarizado a 10 gazapos. La condición corporal de las conejas se evaluó *in vivo* con ultrasonidos (Pascual *et al.*, 2000) a través del grosor de su grasa perirenal el día 10 post parto, en todos los partos.

El carácter estudiado fue la longevidad de las hembras, definida como el número de días entre la primera palpación positiva y la muerte o eliminación por cuestiones patológicas o reproductivas. Todas las hembras que sobrevivieron seis partos fueron eliminadas el día 10 después de este último parto y fueron tratadas como animales con datos censurados. En total los datos incluyeron 111 (67%) hembras censuradas y 55 (33%) hembras no censuradas.

El análisis se llevó acabo con un modelo de Cox de riesgos proporcionales:

$$h_i(t) = h_0(t) \exp(X_i'(t)\beta + a_i)$$

donde,  $h_i(t)$  es la función de riesgo para el individuo  $i$  en el tiempo  $t$ ,  $h_0(t)$  es la función de riesgo base, común para todos los animales y que describe el proceso de envejecimiento de la población en su conjunto.  $X_i$  es un vector que indica para cada tiempo  $t$  que efectos fijos afectan al animal  $i$ . Los efectos fijos incluidos en el modelo ( $\beta$ ) se pueden agrupar en dependientes del tiempo, que fueron el número de nacidos vivos en cada parto (NNV) con 5 niveles (hembras nulíparas,  $0 < \text{NNV} \leq 6$ ,  $6 < \text{NNV} \leq 11$  y  $11 < \text{NNV}$ ), el espesor de grasa perirenal el día 10 post-parto con 4 niveles (definidos por la media  $\pm$  una desviación típica y un quinto nivel "dummy" que incluyó a los animales cuando no se tenía la observación para la grasa), el estado fisiológico con 3 niveles (gestante, lactante y vacía), el número de ciclo reproductivos definidos por las palpaciones positivas con dos niveles (primer ciclo, desde la primera palpación positiva hasta la segunda palpación positiva, y el resto de ciclos). Entre los factores no dependientes del tiempo se incluyó únicamente el tipo genético al que pertenecía el animal (seleccionado o control). Finalmente,  $a_i$  es el efecto genético aditivo que se asumió como normal multivariante con media 0 y varianza  $A \cdot \sigma_A^2$ , donde  $A$  es la matriz de relaciones de parentesco y  $\sigma_A^2$  es la varianza aditiva del carácter.

La varianza genética aditiva que se uso en el análisis fue de 0.1, estimada previamente en otro trabajo para la línea V (Sánchez *et al.*, 2004). La estimación se llevó a cabo usando el programa Survival Kit (Ducrocq y Sölkner, 1998).

## Resultados y Discusión

La Tabla 1 muestra el Riesgo Relativo para todos los niveles de los efectos fijos. En esta tabla los resultados que tienen sentido son los cocientes entre los riesgos relativos de diferentes niveles dentro de un mismo efecto, este cociente se puede interpretar como la probabilidad de eliminación en un nivel con respecto a otro. Por ejemplo, es 4 veces más probable la eliminación de una coneja del grupo de grasa 1 que del grupo de grasa 2.

Tabla 1. Estimaciones del Riesgo Relativo de muerte o eliminación y número de observaciones no censuradas entre los niveles de los efectos fijos.

Covariable	Nivel de covariable	Riesgo Relativo	Obs. no censuradas <sup>c</sup>
Grupo genético	Control	1.00	28
	Seleccionado	0.64	27
Grupo de grasa	1	1.00	9
	2	0.25	6
	3	0.37	15
	4	0.40	23
NNV <sup>b</sup>	1 (NNV=0)	1.00	14
	2 (0 < NNV ≤ 6)	0.11	3
	3 (6 < NNV ≤ 11)	0.16	13
	4 (11 < NNV)	0.22	24
Orden de ciclo	1 (Nulíparas)	23.13	13
	2 (Multíparas)	1.00	42
Estado fisiológico	1 (Gestante)	7.16	29
	2 (Lactante)	2.44	15
	3 (Vacía)	1.00	11

b: número de nacidos vivos

c: El número de observaciones no censurado en el grupo de grasa y tamaño de camada no suma 55 entre todos los niveles pues no están incluidos los niveles "dummy" (para grasa cuando falta el registro y para NNV cuando las conejas son nulíparas).

### Efecto de la grasa

Como era de esperar, el riesgo relativo de eliminación de un animal en el nivel más bajo de grasa fue el mayor, y significativamente diferente del resto ( $P < 0.05$ ). Esto

está en concordancia con la hipótesis de que los animales necesitan una cantidad mínima de grasa para asegurar los recursos exigidos por los gazapos en lactación, sin tener otros costes funcionales como, por ejemplo, una disminución de la longevidad. Aunque entre los niveles 2, 3 y 4 de grasa las diferencias no fueron estadísticamente significativas se puede apreciar como la relación de la condición corporal y la supervivencia no es lineal, estando el óptimo en el nivel 2. Esto podría ser debido al efecto negativo del engrasamiento sobre los parámetros reproductivos de las conejas (causa de eliminación), descrito por Pascual et al. (2003).

#### *Efecto de grupo genético y número de nacidos vivos*

Aunque las diferencias en cuanto a riesgo entre los dos tipos genéticos no fue significativa ( $P=0.12$ ), se puede decir que si fueron relevantes. Era 1.56 veces más probable la eliminación de una coneja del grupo control que otra del grupo seleccionado. En cuanto al tamaño de camada se apreció un gran efecto significativo entre el nivel  $NNV=0$  y el resto de niveles (las diferencias entre el resto de niveles no fueron significativas). Cuando el efecto de tamaño de camada se retiraba del modelo las diferencias entre los grupos genéticos aumentaban su nivel de significación ( $P=0.08$ ), y se hacía 1.66 veces más probable la eliminación de una coneja control que otra seleccionada. Por lo tanto, se puede decir que una pequeña parte de las diferencias entre los grupos genéticos podría deberse a sus diferencias en el número de nacidos vivos.

La teoría de asignación de recursos postula que cuanto más energía se usa para la reproducción menos recursos disponibles habrá para otras funciones, como por ejemplo la supervivencia (Reznick *et al.*, 2002). Nuestros resultados contradicen aparentemente esta teoría, y una posible explicación para este hecho puede ser que la selección por prolificidad no sólo podría haber afectado a ésta de manera directa, sino que de manera indirecta también se ha obtenido una respuesta correlacionada en la capacidad de los animales por obtener recursos (Noordwijk & de Jong, 1986; Reznick *et al.*, 2002).

### **Conclusiones**

La longevidad de las hembras se vio afectada significativamente por la condición corporal. La selección por prolificidad podría tener un efecto positivo, aunque no detectado como significativo, sobre la longevidad de las conejas reproductoras.

### **Referencias**

- Costa, C., Baselga, M., Lobera, J., Cervera, C. & Pascual, J. J. 2004. *J. Anim. Breed. Genet.* 121:186-196.
- Ducrocq, V. and Sölkner, J. 1998. *Proc. 6<sup>th</sup> World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Armidale, NSW, Australia, 27:447-448.
- García, M.L. & Baselga, M. 2002. *Livestock Production Science*, 74, 45-53.
- Quevedo, F., Cervera, C., Blas, E., Baselga, M., Costa, C. & Pascual, J.J. 2005. *Animal Science*. Accepted.
- Pascual, J.J., Castella, F., Cervera, C., Blas, E. & Fernández-Carmona J. 2000. *Animal Science*, 70:435-442
- Pascual J.J., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J. 2003. *Nutricional Abstracts and Reviews: Series B*, 73:27-39.
- Rauw, W. M., Knap, P. W., Gomez-Raya, L. Varona, L. & Noguera, J. L. 2003. *J. Anim. Sci.* 81:939-944.
- Reznick, D., Nunney, L., and Tessier, A., 2002. *Trends in Ecology and Evolution*, 15 (10), 421-425.
- Sánchez, J.P., Baselga, M., Peiró, R. & Silvestre, M.A. 2004. *Livestock Production Science*. 90:227-234.
- Noordwijk, A. J. & de Jong, G., 1986. *American Naturalist*, 128(1), 137-142.
- Zak L. J., Cosgrove, J. R., Aherne, H. X. & Foxcroft, G. R., 1997. *J. Anim. Sci.* 75:208-216.



*Sistemas ganaderos*  
*Economía y gestión*



## **LA GANADERÍA EXTENSIVA EN LAS ISLAS BALEARES. DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y ORIENTACIÓN PRODUCTIVA**

**Rigo, A<sup>1</sup>; Joy, S<sup>1</sup>; Gulías, J<sup>2</sup>; Joy, M<sup>3</sup>; Ramon, J<sup>4</sup> y Cifre, J<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Institut de Biologia Animal de Balears, S.A. C/ Esperanto nº 8. Son Ferriol. 07198 Palma de Mallorca

<sup>2</sup> Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola, Universitat de les Illes Balears, Cra. Valldemossa km 7.5 07122 Palma de Mallorca

<sup>3</sup> Unidad de Tecnología en Producción animal. SIA-DGA. Apdo 727 50080 Zaragoza

<sup>4</sup> Servei de Sistemes d'Informació Geogràfica i Teledetecció. Universitat de les Illes Balears. Cra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca

### **INTRODUCCIÓN**

La isla de Mallorca ha experimentado, desde hace siglos, una importante presión humana, lo que ha originado que la mayor parte de su superficie tenga actualmente un uso agrícola (Salvá y Binimelis, 1994). No obstante, aproximadamente el 38% de su superficie se ha catalogado como no cultivada (Lucas, 2002). Una parte de este terreno ha sido utilizado históricamente con diversos fines, entre los que destaca el pastoreo. De este modo, la ganadería extensiva ha sido un recurso importante a lo largo de la historia, que ha ocupado especialmente las zonas menos productivas. Sin embargo, en el último tercio del siglo XX la actividad agraria en general y la ganadera en particular han experimentado un notable retroceso como consecuencia de la irrupción del turismo como principal actividad económica de las islas (Riera, 2003). Paradójicamente, en los últimos años, ha crecido el interés por los sistemas agroganaderos extensivos como elementos de gestión del paisaje (González et al., 1998), ya que conducen a la mejora del turismo de calidad en las islas, tal y como ya apuntaban algunos autores en la década de los ochenta (Morey, 1987).

En este contexto el objetivo del presente trabajo es la caracterización productiva de la ganadería extensiva de las Islas Baleares, como elemento de gestión del territorio.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El presente trabajo consiste básicamente en la recopilación y síntesis de la información disponible en diversas fuentes dispersas y no relacionadas. Los datos relativos a los censos ganaderos proceden de las bases de datos de SIMOGAN (TRAGSA, 2003), de las campañas de saneamiento ganadero y del censo agrario de 1999 (IBAE, 2001). Los datos de superficies y sus usos se recopilaron a partir de las bases de datos de la PAC, del censo agrario de 1999 (IBAE, 2001) y de Lucas (2002). Finalmente, para la elaboración de la cartografía se ha utilizado como herramienta de trabajo un SIG. Para la integración, revisión y validación de la cartografía digital y de la base de datos asociada se ha utilizado el programa ArcGis v.8.2 (ESRI). Una vez validada la cartografía final y las bases de datos correspondientes, se volcó dicha información sobre una base cartográfica municipal.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se presentan los censos de las distintas especies ganaderas para cada isla, correspondientes al año 2002, en unidades de ganado mayor (UGM). En dicha tabla destaca en primer lugar cómo Mallorca es la isla con mayor actividad ganadera con un total de 67415 UGM, muy superior a las 21088 UGM de Menorca. En Ibiza-Formentera, la ganadería es meramente simbólica con 2732 UGM.

En Mallorca la especie más importante es la ovina con 39392 UGM. A continuación hay que destacar al porcino que representa unas 7400 UGM de reproductores y 10365 UGM de cebo. Para esta especie hay que señalar que, sobretodo en los animales de cebo, las explotaciones son muy grandes y con una producción muy intensiva, en cambio en los animales de cría es muy frecuente tener las reproductoras durante buena parte de su ciclo productivo en régimen extensivo, aprovechando superficies de cultivo, restos de cosecha, eriales, encinares y otra vegetación típicamente mediterránea. Aún con todo, los animales de la raza negra mallorquina desarrollan buena parte de su ciclo de cebo en condiciones semiextensivas. Por último, el ganado vacuno está muy intensificado en la isla y cuenta con sólo 6469 ejemplares adultos.

En la isla de Menorca la especie más importante es el vacuno. Para esta especie, Menorca posee más del 60% del total de los efectivos de Baleares. Destaca el escaso peso que tiene el ovino con sólo 2695 UGM. Lo mismo ocurre para el porcino, que entre el de cebo y los reproductores suman 2363 UGM. Es destacable también en esta isla cómo la mayor parte del ganado vacuno tiene una orientación lechera, pero mantiene unos niveles de extensificación muy importantes.

Para el caso de Ibiza y Formentera, los censos son muy reducidos, con sólo 10808 ovejas reproductoras, que suponen 1621 UGM. Para ganado vacuno existen sólo dos explotaciones con 303 animales adultos, y en porcino el censo alcanza únicamente 222 UGM.

El ganado caprino es testimonial en las islas puesto que supone el 2.6% de la cabaña ganadera. Sin embargo en las islas de Ibiza y Formentera este ganado supone el 17.8% de la cabaña. Además, hay que destacar que en la isla de Mallorca existe una importante población de cabra asilvestrada en la Serra de Tramuntana y las montañas de Llevant, sin domesticar ni censar, y con unos efectivos muy importantes que algunos autores cifran en 7000 UGM (Cifre, 2002).

Tabla 1. Censo ganadero (UGM) por especies y por islas (2002)

Isla	UGM Ovino (f=0.15)	UGM Vacuno (f=1)	UGM Caprino (f=0.15)	UGM Porcino reprod. (f=0.35)	UGM Porcino cebo (f=0.15)	UGM Equino (f=1)	UGM Totales
Mallorca	39392	6469	1623	7400	10365	2166	67415
Menorca	2695	14387	342	1332	1031	1301	21088
Ibiza-Form.	1621	303	488	100	122	98	2732
BALEARES	43708	21159	2453	8832	11518	3565	91235

En la Tabla 2 se presentan los valores de superficie utilizable por el ganado extensivo. Del análisis conjunto de las tablas 1 y 2 se desprende que la carga ganadera media es muy diferente en cada isla. Menorca es la isla con mayor tradición ganadera, con una carga ganadera media de 0.30 UGM/ha, seguida de Mallorca con 0.18 UGM/ha, y tan sólo 0.04 UGM/ha en las islas de Ibiza y Formentera. Estas diferencias entre islas, en carga ganadera total y en especies dominantes, sugieren la necesidad de políticas de gestión de esta ganadería y del territorio muy distintas para cada una de ellas (Salvá, 2003).

Finalmente la Figura 1 recoge la especialización ganadera en la isla de Mallorca a lo largo del territorio. Como se observa en dicha figura, la totalidad de municipios tienen censos de ganado ovino, especialmente el la zona norte (montaña) y centro (zona cerealista), mientras que sólo unos pocos mantienen cabaña vacuna (básicamente en el sureste de la isla). El ganado porcino se concentra cerca de los

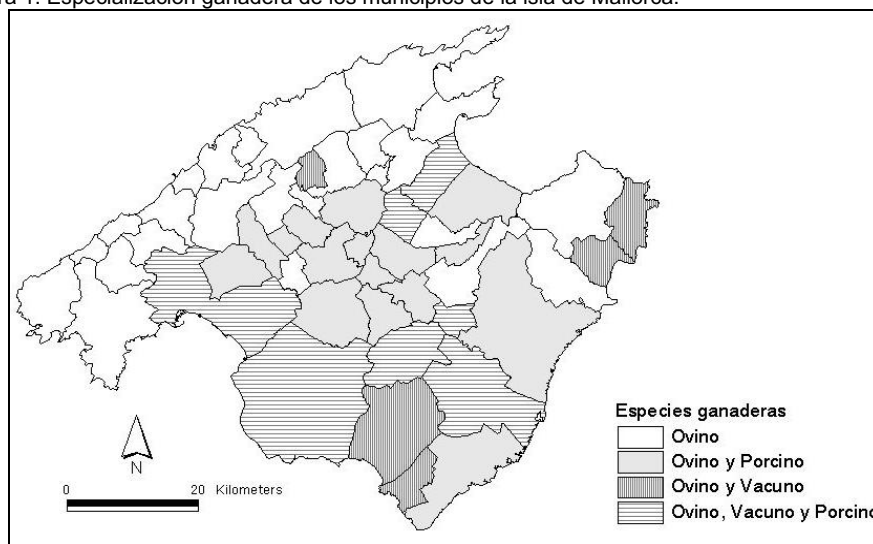


centros de consumo más importantes (Palma y Manacor), y en la zona cerealista central.

Tabla 2. Distribución de la superficie agrícola (ha) por islas en base a su utilidad forrajera (2002)

Isla	Superficie total	Superficie Agraria total	Superficie no agrícola	Superficie forrajera	Superficie agrícola pastable	Superficie agrícola no pastable
Mallorca	362693	286253	76440	20622	130803	155450
Menorca	69510	54710	14800	17825	24570	30140
Ibiza-Form.	65217	33863	31354	1111	19645	14218
BALEARES	497420	374826	122594	39558	175018	199808

Figura 1. Especialización ganadera de los municipios de la isla de Mallorca.



### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado por el INIA y la Conselleria d'Agricultura i Pesca del Govern de les Illes Balears, dentro del proyecto INIA 'Tipificación, cartografía y evaluación de los pastos españoles' (Proyecto INIA OT00-037-C17-05).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIFRE, J., 2002. I Congr s Rural. Ed. Conselleria d'Agricultura i Pesca.
- GONZÁLEZ, J.L.; ROBLES, A.B.; BOZA, J., 1998. En: Agricultura sostenible, 555-574. Eds. R.M. JIMÉNEZ y J. LAMO DE ESPINOSA. Mundi-Prensa.
- GOVERN DE LES ILLES BALEARS, 2003. Macromagnituds Illes Balears 2002.
- IBAE, 2001. Les Illes Balears en xifres 2001. Govern de les Illes Balears.
- LUCAS, A.M., 2002. Monografies de la Conselleria d'Agricultura i Pesca I.
- MOREY, M., (1987). XXVII Reunión científica de la SEEP.
- RIERA, A. 2003. Informe econòmic i social de les Illes Balears 2002. Sa Nostra.
- SALV , P.A., 2003. En: Libro blanco de la agricultura y el desarrollo rural. MAPA.
- SALV , P.A. ; BINIMELIS, J., 1994. En: El sector agrario. Análisis desde las CCAA, 99-118. Ed. MAPYA y MundiPrensa.
- TRAGSA, 2003. SIMOGAN. MAPA-Conselleria d'Agricultura i Pesca.

## COMPARACIÓN DE LOS SISTEMAS DE VACUNO DE CARNE EN EL PIRINEO CENTRAL (1991-2004): RESULTADOS PRELIMINARES

García M.A.<sup>1</sup>, Olaizola A.M.<sup>2</sup>, Riedel J.L.<sup>1</sup> y Bernués A.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>CITA Gobierno de Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

<sup>2</sup>Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La ganadería sigue constituyendo una actividad insustituible en las zonas de montaña desde el punto de vista económico y medioambiental, a pesar del acelerado crecimiento del turismo y de una población rural cada vez más escasa (Gibon *et al.*, 2004). Aunque la PAC asigna a estas zonas una importancia creciente (Massot, 2003), existen numerosos factores que amenazan la continuidad de muchas explotaciones y por tanto la sostenibilidad de los sistemas (Bernués *et al.*, 2005). En este marco, es necesario tener un conocimiento detallado de los patrones de evolución de los sistemas de producción de rumiantes y de su situación actual (Olaizola y Gibon, 1997).

Este trabajo constituye una primera aproximación al análisis de la evolución de los sistemas ganaderos de vacuno en el Pirineo Oscense entre 1991 y 2004.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han comparado algunos de los resultados obtenidos por Bernués (1994) en el año 1991 en los valles de Broto y Baliera-Barravés en 69 explotaciones de vacuno, con información obtenida en 2004 a través de una encuesta dirigida a las mismas explotaciones. Concretamente, se han considerado indicadores de superficie y distribución de aprovechamientos: superficie agrícola útil (SAU), cultivos agrícolas (CA) y superficie forrajera (SF); dimensión del rebaño y orientación productiva; y diversos aspectos de manejo del pastoreo, de la alimentación y de la reproducción. Los resultados se han analizado mediante la prueba de *t de Student* para comparación de medias.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al número de explotaciones estudiadas en el trabajo de Bernués (1994) (32 en Broto y 37 en Baliera-Barravés), el 26 % han abandonado la actividad en un periodo de 13 años y actualmente sólo continúan 51 explotaciones (22 y 29 respectivamente).

El uso y aprovechamiento de la tierra se muestra en el Cuadro 1, donde se observan diferentes tendencias entre valles. En Broto se ha duplicado la SAU media de la explotación, sin embargo en Baliera-Barravés se ha reducido ligeramente. Esta reducción es debida a la disminución de arrendamientos, lo cual obedece a un aprovechamiento pastoral diferente, tal y como se discute más adelante.

Cuadro 1. Superficies y distribución de aprovechamientos (media 1991 y 2004).

Variable	Valle de Broto			Valle de Baliera-Barravés		
	1991	2004	Sig	1991	2004	Sig
ha SAU	17,74	34,81	***	120,93	106,19	***
%CA/SAU	1,39	0,04	NS	0,39	0,78	NS
%SF/SAU	95,60	98,08	***	85,82	91,15	***
%CF/SF	1,49	0,00	NS	17,14	6,89	**
%PASTOS/SF	98,51	100,00	***	82,86	93,11	***

\*\*\*P<0.0001; \*\*P<0.005; \*P<0.05; NS no significativa

La importancia de la superficie forrajera se ha incrementado significativamente en ambos valles, a pesar del elevado porcentaje que suponía respecto a la SAU en 1991. Sin embargo, los cultivos forrajeros (CF) han disminuido notablemente, aumentado los pastos herbáceos en igual proporción. Los cultivos agrícolas han desaparecido prácticamente en Broto y han aumentado ligeramente en Baliera-Barravés, aunque las diferencias no son significativas. Podemos concluir que en ambas zonas ha habido una notable extensificación en el uso de la tierra.

En el Cuadro 2 se observa un incremento en la dimensión media de los rebaños de unas 20 UGtotales por explotación en ambos valles, aunque ligeramente superior en Broto donde el tamaño medio de rebaño es menor. La importancia del vacuno respecto a las UGtotales ha aumentado, sobre todo en Baliera-Barravés, ya que en 1991 había cierta orientación mixta vacuno-ovino que prácticamente ha desaparecido. Por tanto, se observa una tendencia hacia una mayor especialización de las explotaciones.

Un cambio evolutivo fundamental ha ocurrido en la orientación productiva de las explotaciones. En 1991 entre el 85 y el 90% de las explotaciones producían leche; en 1994 la producción de leche ha desaparecido por completo en ambos valles. Alternativamente, el cebo de terneros en la explotación, bien sea de forma individual o cooperativa, ha aumentado hasta el 40% de explotaciones en Broto y aproximadamente el 50% en Baliera-Barravés.

Cuadro 2. Dimensión de los rebaños y orientación productiva (media 1991 y 2004).

Variable	Valle de Broto			Valle de Baliera-Barravés		
	1991	2004	Sig	1991	2004	Sig
UGtotales	46,31	68,59	***	66,52	82,52	***
%UGvacuno/UGtotales	92,15	94,99	***	79,99	97,87	***
% explotaciones-leche	87,5	0,0	***	89,16	0,0	***
% explotaciones-cebo	12,5	40,9	***	10,81	48,27	***

\*\*\*P<0.0001; \*\*P<0.005; \*P<0.05; NS no significativa

El Cuadro 3 recoge indicadores de manejo del pastoreo, alimentación y reproducción del ganado. La duración del pastoreo se ha incrementando significativamente (35 días en promedio) en el periodo estudiado, suponiendo como media 302 y 284 días al año en Broto y Baliera-Barravés, respectivamente. Simétricamente, el periodo de estabulación del ganado se ha reducido a 2 meses de media en Broto y 2 meses y medio en Baliera-Barravés. No obstante, se observan diferencias entre los valles estudiados, en cuanto al periodo de utilización de diversas superficies. En Broto ha habido un notable incremento de pastoreo en pastos intermedios y de fondo de valle mientras que el periodo de utilización de puertos ha disminuido. Sin embargo, el incremento del pastoreo en Baliera-Barravés se debe a un notable aumento de la utilización de pastos de puerto, mientras que la utilización de pastos intermedios y de fondo de valle ha permanecido prácticamente constante.

Debido a la diferente evolución de las superficies y los tamaños de rebaño, las cargas ganaderas anuales sobre la superficie forrajera han disminuido en Broto y han aumentado en Baliera-Barravés. Es de destacar también el considerable aumento en la proporción de animales que suben a los pastos de puerto en verano.

En cuanto al manejo de la alimentación en pesebre, el consumo de concentrado ha disminuido en un 55% en los dos valles, sin embargo, el uso de

ensilado en bolas ha aumentado significativamente, sobre todo en Baliera-Barravés donde el 90% de las explotaciones realizan este tipo de conservación de forrajes.

Con relación al manejo reproductivo del rebaño, se ha observado un considerable descenso en el uso de la inseminación artificial (IA). Así mismo, la edad media al primer parto de las novillas se ha incrementado en 8 o 9 meses.

Cuadro 3. Manejo alimenticio, pastoreo y reproducción (media 1991 y 2004).

Variable	Valle de Broto			Valle de Baliera-Barravés		
	1991	2004	Sig	1991	2004	Sig
Pastoreo total (días)	266,25	302,09	***	249,24	284,42	***
Pastoreo en prados/ pastizales (d)	117,19	197,23	***	156,32	152,38	***
Pastoreo en puerto (d)	149,06	104,86	***	92,92	132,03	***
Periodo de estabulación (d)	98,75	62,91	***	115,76	80,59	***
UGvacuno/ha SF	2,97	2,73	***	1,01	1,21	***
%UGvacuno en puerto	66,58	73,78	***	49,87	60,42	***
% de explotaciones con silo	0,00	22,72	***	27,03	89,66	***
pienso (kg/ vaca/ año)	103,5	55,8	**	54,0	30,6	*
% explotaciones con IA	62,5	0,0	***	56,75	13,79	***
EPP de las novillas (meses)	21,37	29,27	***	23,68	30,07	***

\*\*\*P<0.0001; \*\*P<0.005; \*P<0.05; NS no significativa

Estos resultados preliminares muestran una clara tendencia hacia un manejo más extensivo de los sistemas de producción de vacuno en la actualidad respecto a 1991, que ha supuesto profundas modificaciones en la estructura, orientación productiva y manejo de las explotaciones. Éstos procesos deben entenderse como respuestas adaptativas (Manrique *et al.*, 1999) a un entorno social, económico y político que ha sufrido importantes cambios en el periodo de estudio.

### AGRADECIMIENTOS

El trabajo se enmarca en el Proyecto INIA RTA03-029-C2-1, cofinanciado por FEDER. El primer autor esta becado por CONACYT- Gobierno de México y la Fundación Carolina, el tercer autor esta becado por el Gobierno de Aragón y Fondo Social Europeo (B-108/2003). Se agradece especialmente la contribución de los ganaderos del Pirineo Oscense.

### BIBLIOGRAFÍA

- Bernués A. (1994). Economía de la sanidad animal en áreas de montaña: interrelaciones entre la patología y los sistemas de explotación de vacuno y evaluación económica de programas sanitarios. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza. Ed. Instituto de Estudios Altoaragoneses, Serie CD-Rom 1, 349p.
- Bernués A., Riedel J.L., Asensio M.A., Blanco M., Sanz A., Revilla R., Casasús I. (2005). An integrated approach to study the role of grazing farming systems in the conservation of rangelands in a protected natural park (Sierra de Guara, Spain). Liv. Pro. Sci. (in press)
- Gibon, A., Balent, G., Alard, D., Muntane, J., Raich, Y., Ladet, S., Mottet, A. y Lulien, M. P. (2004). L'sage de l'espace par les exploitations d'élevage de montagne et la gestion de la biodiversité. Fourrages 178, 245-263.
- Manrique, E., Olaizola, A., Bernués, A., Maza, M. T. y Sáez, A. (1999). Economic diversity of farming systems and possibilities for structural adjustment in mountain livestock farms. Options Méditerranéennes serie B : Etudes et Recherches 27, 81-94.
- Massot, M. A. (2003). La reforma de la PAC de 2003 hacia un nuevo modelo de apoyo para las explotaciones agrarias. Revista Española de Estudios Agro sociales y Pesqueros 199, 11-60.
- Olaizola, T. A. y Gibon, A. (1997). Bases teóricas y metodológicas para el estudio de las explotaciones ganaderas y sus relaciones con el espacio. La orientación de la escuela Francesa de sistemistas. ITEA 93 (1), 17-39.

## **LOS SISTEMAS DE VACUNO DE CARNE DE LAS SIERRAS DE LA RIOJA: I CARACTERIZACIÓN DE LAS EXPLOTACIONES**

M. I. Nieto, A. M. Olaizola y E. Manrique  
Dpto. Agricultura y Economía Agraria. Universidad de Zaragoza.  
Miguel Servet 177 - 50013 - Zaragoza

### **INTRODUCCIÓN**

Los sistemas ganaderos tradicionales de montaña están basados en el aprovechamiento de recursos naturales con una marcada estacionalidad, por lo que el manejo de los rebaños se establece según la capacidad de adaptación de los animales y el ciclo reproductivo natural de los mismos (Casasús *et al.*, 2002). Su carácter multifuncional es ampliamente reconocido, pero estos sistemas están condicionados por numerosas interacciones entre factores técnicos, sociales, económicos y del medio físico (Manrique *et al.*, 1992) y por la complejidad y relaciones de las diversas variables que intervienen en el manejo del sistema (Osoro, 1995). El objetivo de este trabajo es analizar la diversidad de explotaciones de vacuno de las Sierras de La Rioja, España, mediante el establecimiento de una tipología. Dicha tipología nos permitirá con posterioridad evaluar económicamente el cambio de la estrategia productiva en estas explotaciones en el siguiente trabajo.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

La información se ha obtenido mediante 73 encuestas referidas a la campaña 1999-2000, realizadas a explotaciones de ganado vacuno, situadas en los cinco valles principales de La Rioja: Valle de Oja, de Najerilla, del Iregua, del Leza y del Cidacos. La muestra representa el 22,5% de las explotaciones existentes y al 29,6% del censo reproductor explotado. Para describir la muestra se han agrupado en estratos de dimensión, teniendo en cuenta las unidades ganaderas de vacuno (UGV) y en función de su distribución. A partir de indicadores sobre la estructura, la importancia de la superficie forrajera y los tipos de terneros vendidos se ha realizado un Análisis de Componentes Principales (ACP) y un Análisis Cluster para establecer una tipología de las explotaciones.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El ganado vacuno supone la actividad predominante de las explotaciones estudiadas. Se observa que el grado de especialización de las explotaciones (%UGV/UGT) aumenta con la dimensión ganadera de las mismas (UGV), mientras que la presencia de ovino (%UGO/UGT) es mayor en los estratos de menor dimensión (Tabla 1). Si se compara las superficies que utilizan estas explotaciones, todos los estratos utilizan en un alto porcentaje superficies ajenas a la explotación (SAE) ya sean comunales u otras fincas. En los estratos de menor dimensión (I y II) y en el IV, un alto porcentaje de explotaciones no disponen de SAU. Por otro lado, el 71% del estrato VI seguido por el 63% del II utilizan ambas superficies. Así mismo, los estratos de mayor dimensión son los que presentan una mayor dimensión física mientras que el estrato I y III disponen de una media de 4ha de SAU; datos superiores en el primer caso e inferiores en el segundo si los comparamos con los resultados aportados por Olaizola *et al* (1995) en los que las explotaciones tienen una superficie media de 27,3 ha de SAU. Con relación a la distribución de aprovechamientos, la superficie forrajera ocupa una parte importante de la SAU, suponiendo en algunos estratos el 100% de la misma. Se trata, por tanto de

sistemas de producción sustentados, fundamentalmente, en prados y pastizales, que constituyen la base forrajera principal para la alimentación del ganado. El carácter familiar de las explotaciones queda manifiesto en la casi totalidad de la muestra (89%). Respecto a la edad de los ganaderos, el 57% tienen menos de 45 años, siendo la edad media de los ganaderos menor en los estratos de mayor dimensión. En cuanto a las disponibilidades de mano de obra (UTA) son superiores en el estrato VI, que presenta una media de 2,5 UTA, mientras que en los otros estratos son similares.

Tabla 1. Características estructurales y distribución de los aprovechamientos por estratos de dimensión.

Grupos UGV	I	II	III	IV	V	VI
	≤ 20	21-25	26-40	41-70	71-130	> 130
Porcentaje de explotaciones	12	11	20	22	22	12
<b>Estructura:</b>						
Unidad Trabajo Año (UTA)	1,5	1,2	1,5	1,5	1,5	2,5
Edad titular	50	54	45	44	40	41
Unidades Ganaderas Vacuno (UGV)	13	23	31	51	95	233
%UGV/Unidades Ganaderas Totales (UGT)	65	74	79	92	91	82
%Unidades Ganaderas ovino (UGO) /UGT	28	18	18	4	7	16
<b>Disponibilidad y uso de la tierra:</b>						
Superficie Agrícola Útil (SAU) (ha)	4	7	4	25	10	35
Superficie Ajena Explotac. (SAE) (ha)	2.635	2.690	1.834	1.325	714	2.549
% SAU propiedad	36	74	86	60	42	43
ha Sup. forrajera (SF) / UGV	0,29	0,29	0,14	0,48	0,09	0,10
% SF/SAU	100	83	100	62	94	84
ha SAE /UGV	158	102	51	22	7	12

Con respecto al manejo reproductivo, típico de los sistemas tradicionales, la mayoría aplica la monta natural como principal sistema de cubrición y sólo un 7% inseminación artificial. Así, los toros permanecen todo el año con las vacas y los partos se distribuyen durante todo el año, aunque se observa una ligera concentración en invierno y primavera. El 50% de las explotaciones produce terneros de menos de 5 meses y casi un 20% produce terneros para la venta de entre 5 y 10 meses, mientras que el 14% ceba siempre los terneros.

### **Tipología de las explotaciones de vacuno de las Sierras de La Rioja**

A partir de indicadores sobre la estructura, la importancia de la superficie forrajera y los tipos de terneros vendidos, se han obtenido tres factores que explican el 70% de la varianza. El primer factor obtenido, explica el 35% de la varianza y señala sistemas extensivos con relación a la superficie disponible respecto al ganado. El segundo factor, explicando el 24% de la varianza, se podría denominar de "dimensión", ya que relaciona una mayor dimensión ganadera, con mayor SAU y una mayor disponibilidad de UTA. El tercer factor (11% de la varianza) se refiere a "tipos de terneros vendidos y disponibilidad de superficie ajena a la explotación", señalando que a menor disponibilidad de SAE por UGV, mayor porcentaje de cultivos forrajeros por SAU y un mayor porcentaje de terneros vendidos entre 5 y 10 meses. A partir de estos factores y mediante un análisis cluster se han obtenido cinco grupos de explotaciones:

*Grupo 1: "Explotaciones con elevada importancia de los cultivos forrajeros".* Representa el 12,12% de la muestra total. Se caracteriza por poseer la mayor dimensión física e importancia de los cultivos forrajeros en la SAU. Además, es el

que tiene mayor ha SAU/UGV. Un alto porcentaje de los terneros se venden entre 5 y 10 meses y presentan las menores disponibilidades de mano de obra (Tabla 2).

*Grupo II: "Explotaciones sin tierra".* Compuesto inicialmente por 30 explotaciones se ha subdividido en dos grupos claramente diferenciados a partir de la interpretación del dendograma obtenido en el análisis cluster. Representan el 45,45% de las explotaciones, se caracterizan fundamentalmente por no poseer SAU, por lo que tampoco disponen de superficies forrajeras y de cultivos. *Grupo IIa: "Explotaciones sin tierra y escasa dimensión ganadera".* Representa el 23% y presentan una mayor disponibilidad de SAE por UGV que el grupo IIb, así como una menor importancia de los terneros vendidos entre 5-10 meses. *Grupo IIb: "Explotaciones sin tierra de elevada dimensión ganadera".* Presentan una elevada dimensión ganadera y venden un mayor porcentaje de terneros entre 5 y 10 meses que el grupo anterior.

*Grupo III: "Explotaciones de rebaño intermedio y escasa dimensión física".* Representa el 24,24% de la muestra; se caracteriza por tener una escasa dimensión física, una dimensión ganadera intermedia con relación a los demás grupos y una escasa importancia de los terneros vendidos entre 5 y 10 meses.

*Grupo IV: "Explotaciones de mayor dimensión ganadera".* Representa el 9% de la muestra. Poseen mayor número de UGV, así como ha de SAU y mano de obra. Así mismo, venden casi la totalidad de sus terneros entre 5 y 10 meses de edad.

*Grupo V: "Explotaciones con elevada importancia de las superficies ajenas".* Representa el 9,1% de la muestra. Se caracteriza, fundamentalmente por disponer de mayor cantidad de ha de SAE /UGV. Además, es el de menor dimensión ganadera media y menores disponibilidades de mano de obra y no venden terneros de entre 5 y 10 meses.

Tabla 2. Características de los grupos de explotaciones obtenidos

	I	IIa	IIb	III	IV	V
Porcentaje de explotaciones	12,12	22,73	22,73	24,24	9,09	9,09
SAU (ha)	12,75	0,00	0,00	5,44	33,17	3,00
% Cultivos forrajeros /SAU	62,12	0,00	0,00	3,13	7,34	0,00
% Sup. Forrajera /SAU	91,67	0,00	0,00	81,25	80,95	66,67
ha Sup. Forrajera / UGV	0,33	0,00	0,00	0,10	0,11	0,14
ha SAU / UGV	0,35	0,00	0,00	0,14	0,16	0,14
UGV	42,21	33,23	92,91	46,56	210,5	24,05
Nº UTA	1,41	1,50	1,50	1,45	3,02	1,00
% terneros vendidos 5-10 meses	62,50	4,56	36,76	7,60	86,67	0,00
ha SAE /UGV	6,09	17,08	4,98	10,36	13,85	425,43

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casasús, I.; Sanz, A.; Villalba, D.; Ferrer, R.; Revilla, R. 2002. Factors affecting animal performance during the grazing season in a mountain cattle production system. *Journal of Animal Science* 80: 1638-1651.
- Manrique, E.; Revilla, R.; Olaizola, A.; Bernués, A. 1992. Los sistemas de producción de vacuno en montaña y su dependencia del entorno. *Bovis*: 9-42.
- Olaizola, A.; Manrique, E.; Maza, M. 1995. Tipos de sistemas de producción y rendimientos económicos en explotaciones de vacuno de montaña. *Información Técnica Economía Agraria* 91A: 47-58.
- Osoro, K. 1995. Conocimientos básicos para el manejo eficiente de sistemas de producción animal en pastoreo. *Producción de carne de vacuno de calidad. Bovis* 66: 13-35.

## **LOS SISTEMAS DE VACUNO DE CARNE DE LAS SIERRAS DE LA RIOJA: II ANÁLISIS ECONÓMICO DEL CAMBIO DE ESTRATEGIA PRODUCTIVA.**

M. I. Nieto, A. M. Olaizola y E. Manrique  
Dpto. Agricultura y Economía Agraria. Universidad de Zaragoza.  
Miguel Servet 177. 50013. Zaragoza

### **INTRODUCCIÓN**

La sostenibilidad de los sistemas ganaderos de montaña está condicionada a su capacidad de adaptación a los cambios sociales y económicos experimentados por su entorno. Para ello, sus modelos productivos deben ajustarse a las nuevas oportunidades y prioridades que la dinámica de dicho entorno establece. La diferenciación del producto, desde la perspectiva de la calidad, sería una de las estrategias de adaptación al entorno, que en los sistemas de vacuno de carne en zonas de montaña, supondría la venta de terneros para sacrificio. En Las explotaciones de vacuno de las Sierras de La Rioja, esta diferenciación se justificaría tanto por su localización geográfica como por su particular sistema de producción (Manrique *et al.*, 2003). Por ello, el objetivo de este trabajo es la evaluación económica del cambio en la estrategia productiva en las explotaciones de vacuno de las comarcas de Sierra de La Rioja.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para la evaluación económica de la posibilidad de un cambio de la estrategia productiva hacia la producción y venta de terneros cebados, se ha realizado un estudio económico por medio de un Análisis de Presupuestos Parciales (APP). Es un método muy útil para evaluar el efecto sobre el beneficio medio anual de una explotación de cambios en las actividades (Turner y Taylor, 1998). En este análisis se consideran los ingresos adicionales (A) los costes evitados (B), los costes adicionales (C) e ingresos perdidos (D) que se modifican, de tal forma que la mejor alternativa, desde el punto de vista económico, es aquella cuya diferencia entre A+B y C+D sea mayor (Warren, 1998). Para cada tipo de explotación obtenida en la tipología del trabajo anterior se ha comparado la situación actual de estas explotaciones, es decir la venta del ternero pastenco al finalizar el pastoreo estival, frente a la venta de un ternero cebado. Finalmente, se ha realizado un análisis de sensibilidad sobre variables técnicas y económicas, para analizar su repercusión sobre el resultado económico final obtenido.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para analizar el cambio hacia la producción de terneros cebados en las explotaciones se han considerado únicamente los indicadores técnicos y económicos que varían en la nueva alternativa respecto a la situación de partida (Tabla 1). Se ha supuesto que los terneros que van a ser cebados nacen de finales del invierno a fin de la primavera, salen a pastar con sus madres y a la bajada se realiza el cebo y acabado. Por otro lado, se ha considerado que al finalizar el pastoreo, y teniendo un peso medio de 211 kg, el periodo medio cebo es de seis meses (191 días). Para los consumos en alimentación y características de los terneros se ha utilizado la información de Bernués *et al* (2001). Para la valoración del coste de alimentación de los terneros se ha considerado el precio medio de los años 2001-2002 (MAPA, 2002). La mortalidad durante el periodo de cebo de los terneros se ha estimado en un 2% (Caballero, 1998) y de 15 €/ternero para los costes



sanitarios (Estación Experimental "La Garcipollera") y (Alberti, 1998). En relación con la mano de obra, para los grupos I, IIa, III y V, dadas sus disponibilidades medias y su dimensión ganadera, no se ha considerado un coste extra por el cebo; en cambio para los grupos IIb y IV, se les asignó un coste adicional, consecuencia del incremento de las necesidades de mano de obra en 0,125 y 0,06 UTA, respectivamente para todo el periodo de cebo. Para calcular el incremento del coste de intereses del capital circulante por ternero se tuvo en cuenta las necesidades de capital circulante, el periodo medio de inmovilización y el tipo de interés legal de referencia del 4,25% (BBVA, 2002). El número de terneros vendidos para cada tipo de explotación corresponde a los valores medios que presentaban.

En la evaluación económica realizada, el beneficio extra obtenido es positivo en todos los tipos de explotaciones (Tabla 2). Los grupos que venden mayor número de terneros (grupos IIb y IV) son aquellos que obtienen un mayor beneficio. Por tanto, en principio el cambio de estrategia productiva supondría beneficios extras en todos los tipos de explotaciones de vacuno. Los beneficios extras obtenidos por ternero son mayores en los grupos I, IIa, III y V, con un promedio de 49€ por ternero, esto es debido a que dentro de los costes extras no se incluye el de la mano de obra y, por tanto, también el coste de interés del capital circulante es menor.

**Tabla 1: Indicadores técnicos y económicos medios utilizados en el APP**

Peso entrada cebo (kg)	210,83
Peso sacrificio (kg)	519,68
Peso canal (kg)	303,88
Precio ternero a bajada del puerto €/ternero	560,60
Precio ternero cebado €/kg/canal	3,21
Duración del cebo (días)	191,00
Consumo diario pienso (kg/ternero/día)	6,90
Precio del pienso €/kg	0,22
Consumo diario paja (kg/ternero/día)	1,60
Precio de la paja €/kg	0,10
Costes de Instalaciones (€/ternero/día)	0,25
Costes veterinarios y sanitarios €/ternero	15,00
Coste de mano de obra €/ternero (Grupo IIb)	6,42
Coste de mano de obra €/ternero (Grupo IV)	6,68
Coste de interés total del capital circulante por ternero	21,33
Coste de interés total del capital circulante por ternero (Grupo IIb)	24,90
Coste de interés total del capital circulante por ternero (Grupo IV)	28,76
Subvención (2001) €/ternero.	53,00

### **Análisis de sensibilidad**

A partir de los resultados económicos obtenidos por tipos, se ha realizado un análisis de sensibilidad. El precio umbral del ternero, es decir el precio en el que el beneficio es nulo es de 3,05 €/kg canal para los tipos I, IIa, III y V, lo que supone una reducción del 5% del precio medio considerado (Tabla 3). Sin embargo, en los tipos de explotación de mayor dimensión, tipo IIb y IV, el precio umbral es de 3,08 y 3,09 €/kg canal respectivamente, es decir, estos tipos de explotaciones de vacuno serían más sensibles a la disminución del precio del ternero cebado. Así mismo, en una hipotética situación de ausencia de subvención por ternero cebado, supondría un beneficio negativo en todos los grupos de explotaciones. El valor umbral de la subvención sería de 3,97€ por ternero cebado en las explotaciones de los tipos I, IIa, III y V y de 14 y 18€ en los grupos IIb y IV, respectivamente. El incremento del coste de alimentación supone una disminución del beneficio extra obtenido en todos los

tipos de explotación. Sin embargo, un incremento del 15% supone beneficios negativos sólo para los tipos de mayor dimensión ganadera, IIb y IV; mientras que un aumento del 20% supone beneficios negativos en todos los grupos. Con relación al número de terneros vendidos, una reducción del 10 y 15% conlleva una reducción del beneficio extra obtenido en todos los grupos, aunque continúan siendo positivos.

Tabla 2: Resultados del APP por tipo de explotación de vacuno (€).

	I	IIa	IIb	III	IV	V
<b>Ingresos extras</b>						
Venta ternero cebado	18.611	14.632	39.018	21.460	105.348	10.730
Subvenciones	1.011	795	2.120	1.166	5.724	583
<b>Total ingresos extras</b>	<b>19.623</b>	<b>15.427</b>	<b>41.138</b>	<b>22.626</b>	<b>111.072</b>	<b>11.313</b>
<b>Ingresos perdidos</b>						
Ternero mamón no vendido	10.696	8.409	22.424	12.333	60.545	6.167
<b>Total ingresos perdidos</b>	<b>10.696</b>	<b>8.409</b>	<b>22.424</b>	<b>12.333</b>	<b>60.545</b>	<b>6.167</b>
<b>Costes extras</b>						
Instalaciones	911	716	1.910	1.051	5.158	525
Alimentación	6.093	4.790	12.774	7.026	34.491	3.513
Veterinarios y sanitarios	286	225	600	330	1.620	165
Capital circulante	407	320	996	469	3106	235
Mano de obra adicional	0	0	256	0	721	0
Mortalidad de terneros	293	230	614	338	1659	169
<b>Total costes extras</b>	<b>7.991</b>	<b>6.282</b>	<b>17.152</b>	<b>9.214</b>	<b>46.755</b>	<b>4.607</b>
<b>BENEFICIO EXTRA (B.E.)</b>	<b>935</b>	<b>735</b>	<b>1.562</b>	<b>1.079</b>	<b>3.771</b>	<b>539</b>

Tabla 3: Análisis de sensibilidad para cada tipo de explotación de vacuno (€).

	I	IIa	IIb	III	IV	V
Valor umbral ternero €	926	926	936	926	941	926
Valor umbral €/kg/canal ternero	3,05	3,05	3,08	3,05	3,09	3,05
B.E. aumento subvención 80 €/ternero	1.451	1.140	2.642	1.673	6.687	836
B.E. sin subvenciones	-76	-60	-558	-87	-1.953	-44
Valor umbral subvención	3,97	3,97	13,95	3,97	18,08	3,97
B.E. incremento 10 % coste alimentación	326	256	284	376	322	188
B.E. incremento 15 % coste alimentación	22	17	-354	25	-1.402	12
B.E. incremento 20 % coste alimentación	-283	-223	-993	-326	-3.127	-163
Número terneros 10 % menos	17	13	36	20	97	10
Beneficio Extra 10 %	842	655	1.423	959	3.404	510
Número terneros 15 % menos	16	13	34	18	92	10
Beneficio Extra 15 %	795	618	1.344	906	3.215	481

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberti, P. 1998. Sistemas de cebo en producción intensiva. In: C. Buxadé Carbó (ed.) Vacuno de carne: Aspectos claves. pp 315-329.
- BBVA. 2002. Informe económico. Servicio estudios. <http://www.bbva.es>. Access: 2004.
- Bernués, A.; Casasús, I.; Sanz, A.; Manrique, E.; Revilla, R. 2001. Evaluación económica de diferentes estrategias de alimentación de la vaca y el ternero durante la lactación y cebo en ganado vacuno de carne en sistemas extensivos de montaña. ITEA 97 A: 117-130.
- Caballero, J. R. 1998. Costes de producción en carne de añojo. In: C. Buxadé Carbó (ed.) Vacuno de carne: Aspectos claves. pp 571-580.
- Manrique, E.; Casasús, I.; Oláizola A.; Medel, I.; R., R. 2003. Producción ganadera diferenciada y territorio. El sistema extensivo de vacuno de cría de las sierras riojanas. In: A. B. Robles Cruz; A. E. Ramos Font; M. C. Morales Torres; E. Simón Navarrete; J. L. González Rebollar and J. Boza López (eds.) Pastos, desarrollo y conservación. SEEP. pp 333-338.
- MAPA. 2002. Boletín mensual de estadística. Vol 12: 60 pp.
- Turner, J.; Taylor. 1998. Applied farm management. Blackwell Science.
- Warren, M. 1998. Financial management for farmers and rural managers. Blackwell Science. ed. Fourth Edition. Oxford. Vol 292 pp.

## **LA GANADERIA OVINA EN EL PARQUE DE LA SIERRA Y CAÑONES DE GUARA. I- INTENSIFICACIÓN REPRODUCTIVA Y MANEJO DEL PASTOREO**

Riedel J.L. Casasús I., García A., Sanz A., Revilla R., Bernués A.  
CITA-Gobierno de Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

El Parque de la Sierra y Cañones de Guara (81.491 ha), localizado en la Provincia de Huesca, constituye un espacio natural protegido tradicionalmente utilizado por ganadería extensiva.

Las explotaciones son mayoritariamente de ovino, aunque también hay algunas de vacuno, caprino, caballar y mixtas. Según Asensio *et al.* (2004), el ganado pasta un 53,2 % del territorio del Parque a una carga media de 0,15 UGM/ha y aprovecha fundamentalmente pastos arbustivos, pastos con arbolado y pastos herbáceos. El aprovechamiento es desigual, con una fuerte influencia del medio físico y del tipo de manejo en su distribución.

Estas actividades experimentan actualmente, al igual que otras zonas de montaña mediterráneas, un proceso de reducción que compromete sus cualidades ambientales y el paisaje. Paralelamente, en los últimos años se ha observado una evolución hacia la intensificación del manejo en sistemas de producción ovina (Olaizola *et al.*, 1998). El interés de este trabajo se centra en estudiar la diversidad de los sistemas ovinos desde el punto de vista de la intensificación del manejo y sus relaciones con el aprovechamiento de los recursos naturales.

En esta primera parte del trabajo, el objetivo ha sido obtener variables sintéticas que expliquen la heterogeneidad de los sistemas de manejo reproductivo y del pastoreo de las ganaderías de ovino, teniendo en cuenta la dinámica y continuidad de las explotaciones; todo ello constituye un primer paso para evaluar las posibles incidencias ambientales de la evolución de los sistemas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los datos fueron recogidos entre junio de 2000 y junio de 2001 mediante una encuesta directa realizada en la totalidad de las explotaciones del Parque, (n= 62). Se recogió información referida a la estructura familiar y de la mano de obra, superficie de la explotación, uso de la tierra, infraestructuras, tamaño y estructura del rebaño, manejo de la alimentación, manejo reproductivo, indicadores de la dinámica y continuidad de la explotación y finalmente indicadores de opinión respecto de la influencia del Parque sobre la actividad agraria.

De las 62 explotaciones encuestadas se seleccionaron 53 ganaderías de ovino de tipo familiar, sobre las que se realizó un análisis estadístico multivariante por el método de Componentes Principales (ACP). Para este análisis se eligieron 8 variables, dejando de lado aquellas referidas a aspectos de dimensión: intensificación del sistema reproductivo, porcentaje de superficie dedicada al pastoreo, porcentaje de la superficie dedicada a pastos cultivados, longitud del período de pastoreo, dinámica de la explotación, continuidad de la explotación, unidades ganaderas sobre unidad de trabajo y carga animal.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

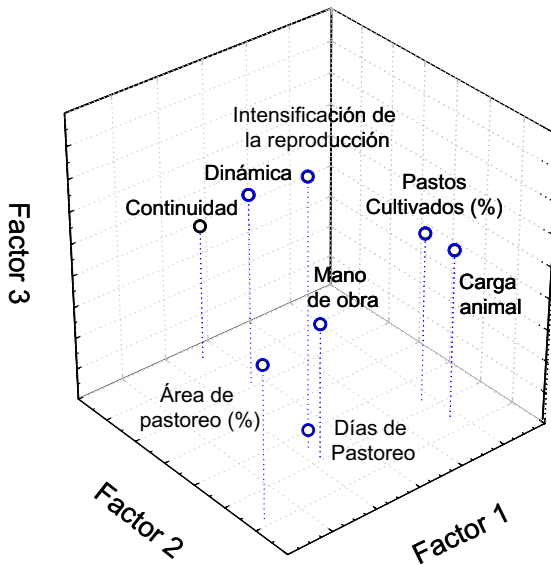
En el análisis factorial se obtuvieron cuatro factores que explicaron un 80.9% de la varianza total y se definieron según se detalla en la Tabla 1. La representación espacial de la contribución de las variables estudiadas a los tres primeros factores obtenidos se muestra en la Gráfica 1.

Tabla 1: Composición de los factores obtenidos en el ACP<sup>1</sup>

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4
Intensificación de la reproducción	0,045	0,207	0,587	0,625
Porcentaje de superficie dedicada al pastoreo	-0,870	-0,158	-0,035	0,038
Porcentaje de la superficie dedicada a pastos cultivados	0,916	0,063	0,071	-0,094
Longitud del período de pastoreo	-0,093	0,108	-0,890	0,094
Dinámica de la explotación	0,099	0,627	0,210	0,507
Continuidad de la explotación	0,032	0,912	-0,140	-0,003
Unidades ganaderas sobre unidad de trabajo	-0,106	0,024	-0,153	0,861
Carga animal	0,937	-0,104	0,065	0,055
Varianza explicada	32,50	23,35	15,17	9,87

<sup>1</sup>con rotación Varimax normalizada

Gráfica 1: Representación espacial de la contribución de las variables a los tres primeros factores resultantes del ACP



Factor 1: *Orientación en el uso de la tierra*: identifica explotaciones con orientación agrícola (escasa área de pastoreo) pero con elevado porcentaje de pastos cultivados sobre dicha área de pastoreo. La carga animal es elevada, lo que puede atribuirse a la mayor capacidad de carga de los pastos cultivados que ya fuera observada por Asensio *et al.* (2004) en los pastos agrícolas del Parque. A su vez se deduce que la menor disponibilidad de pastos naturales implica una mayor necesidad de pastos cultivados.

Factor 2: *Dinámica y continuidad de las explotaciones*: este factor indica una relación entre las explotaciones más dinámicas (innovación en aspectos técnicos, instalaciones, manejo, etc.) con mayores opciones de continuidad.

Factor 3: *Intensificación de la reproducción y pastoreo*: en este factor se observa una relación inversa entre la duración del periodo de pastoreo y la intensificación de la reproducción. Es decir, las explotaciones más intensivas tienen periodos de pastoreo más cortos y viceversa.

Factor 4: *Intensificación de la reproducción, dinámica de la explotación y trabajo*: relaciona explotaciones más dinámicas con mayor intensificación de la reproducción (también observable en el Factor 2) y una mayor cantidad de unidades ganaderas por unidad de trabajo.

El análisis de los factores permitió observar la influencia del modo de gestión de las explotaciones sobre la utilización de los recursos naturales. Como se ha dicho, la intensificación se asocia al uso de insumos externos al sistema y a una menor utilización de los pastos naturales (Choquecallata, 2000; Bernués *et al.*, 2005). En nuestro caso se observó una reducción del período de pastoreo y el incremento de pastos cultivados en detrimento de la superficie de pastos naturales, atribuible a la mayor demanda de alimentación de alta calidad para cubrir los requerimientos animales. También puede destacarse que aquellas explotaciones que evidencian mayores posibilidades de continuidad son las más dinámicas (mayor grado de innovación técnica y de manejo) y éstas son a su vez las que presentaron mayor grado de intensificación de la reproducción y por tanto menor utilización de pastos naturales. La consecuencia de esta reducción en el aprovechamiento de pastos naturales es el cese de utilización de las áreas de pastos de menor calidad y más distantes al núcleo de la explotación, lo que implica un deterioro a nivel del paisaje y de la conservación de los recursos, tal y como se puso en evidencia en otros trabajos realizados en este mismo territorio (Riedel *et al.*, 2004).

#### **AGRADECIMIENTOS**

Proyecto financiado por INIA (RTA 02-086-C2-2) y Gobierno de Aragón (CONSI+D P085/2000 y CTPI 03/2001). Contribuyeron a este trabajo la “Asociación de Ganaderos de la Sierra y Cañones de Guara” y la “Sociedad Cooperativa Agropecuaria del Sobrarbe (SCLAS)”. Doctorandos fueron patrocinados por Gobierno de Aragón–Fondo Social Europeo (B-108/2003) y CONACYT México.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Asensio, M. A.; Riedel, J. L.; Sanz, A.; Revilla., R.; Bernués, A.; Casasús, I. 2004. Estudio de la utilización ganadera del Parque Natural de la Sierra y Cañones de Guara (Huesca) mediante un Sistema de Información Geográfica. 1. Aprovechamiento real. En: XLIV Reunión Científica de la S.E.E.P. pp 697-702.
- Bernués, A.; Riedel, J. L.; Asensio, M.; Blanco, M.; Sanz, A.; Revilla, R.; Casasús, I. 2005. An integrated approach to study the role of grazing farming systems in the conservation of rangelands in a protected natural park (Sierra de Guara, Spain). *Livestock Production Science*. (En prensa).
- Choquecallata, J. 2000. Diversidad de sistemas de explotación ovina en el Pirineo Central: interrelaciones entre el gradiente de intensificación reproductiva, las estrategias alimenticias y la economía de la explotación. Tesis doctoral. 257 pp. Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Olaizola, A., Manrique, E., Bernués, A., 1998. Tipos de dinámicas económicas de explotaciones agrarias con diferentes orientaciones productivas tras la incorporación española a la UE. In: III Congreso Nacional de Economía Agraria. SEEA, Lérida (Spain), 16-18 septiembre 1998.
- Riedel, J. L.; Casasús, I.; Sanz, A.; Blanco, M.; Revilla, R.; Bernués, A. 2004. Extensive livestock systems as tools for environmental management: impact of grazing on the vegetation of a protected mountain area. CAB publication (in press).

## LA GANADERIA OVINA EN EL PARQUE DE LA SIERRA Y CAÑONES DE GUARA. II- TIPIFICACIÓN DE LAS EXPLOTACIONES

Riedel J.L. Casasús I., García A., Sanz A., Revilla R., Bernués A.  
CITA-Gobierno de Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

Sobre la base del Análisis de Componentes Principales (ACP) presentado en el trabajo anterior, se agruparon y caracterizaron las explotaciones en función de aspectos sociales y técnicos relacionados con la gestión de la explotación y con incidencia en aprovechamiento de los recursos naturales. Se prevé posteriormente seleccionar casos de estudio representativos de los distintos grupos para realizar un seguimiento periódico de la gestión de la alimentación, el manejo del pastoreo y de la reproducción, con el fin de profundizar en el estudio de las relaciones entre estos factores.

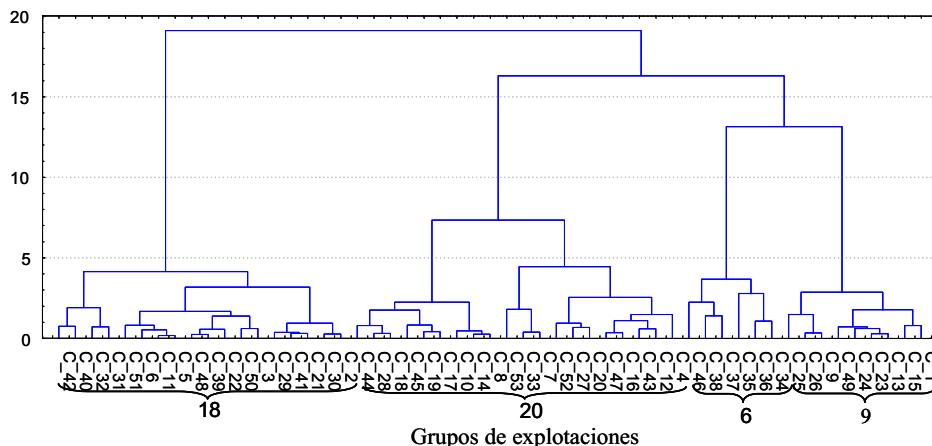
### MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron los tres primeros factores (71% de varianza explicada) obtenidos en ACP (ver primera parte del trabajo): Factor 1 - orientación en el uso de la tierra; Factor 2 - dinámica y continuidad de las explotaciones; y Factor 3 - intensificación de la reproducción y pastoreo. Sobre éstos factores, se realizó un Análisis de Conglomerados para posteriormente caracterizar los grupos obtenidos.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Análisis de Conglomerados se obtuvieron cuatro grupos de explotaciones. El dendrograma correspondiente a este agrupamiento se presenta en la Gráfica 1.

Gráfica 1: Dendrograma de agrupación mediante el método de Ward y Distancia Euclídeana



Los distintos grupos presentaron las siguientes características (Tabla 1):

Grupo I (n= 18), *explotaciones intensivas*: se caracteriza por poseer el mayor porcentaje de superficie de tierra dentro del Parque, aunque el periodo de pastoreo es el más corto de todos los grupos. Estas explotaciones presentan el mayor nivel de intensificación de la reproducción. Además, presenta los mayores índices de pluriactividad y, dinámica de la explotación y elevado índice de continuidad. La opinión sobre la influencia del Parque es la más positiva.

Grupo II (n= 20), *explotaciones extensivas, poco dinámicas y con continuidad comprometida*: se caracteriza por poseer los menores índices de dinámica y de continuidad de la explotación. Es el grupo que proporcionalmente posee más pastos naturales y menos cultivos forrajeros. La duración del pastoreo es intermedia, así como la intensificación del sistema reproductivo. La opinión de los ganaderos de este grupo sobre la influencia del Parque es la más negativa.

Grupo III (n= 9), *explotaciones extensivas, dinámicas y con continuidad*: posee el mayor número de unidades ganaderas y de unidades ganaderas por unidad de trabajo. El índice de intensificación de la reproducción es el más bajo. Comparativamente las explotaciones de este grupo disponen de escasa cantidad de cultivos forrajeros y la duración del pastoreo es la más larga de todos los grupos. Este grupo tiene el menor índice de pluriactividad y el mayor índice de continuidad de la explotación.

Grupo IV (n= 6), *explotaciones de carácter agrícola*: es el de menor cantidad de unidades ganaderas y de superficie agrícola útil. La superficie relativa de pastos naturales es la más baja (orientación agrícola), pero proporcionalmente con la mayor superficie de cultivos forrajeros. Las explotaciones de este grupo no poseen tierras dentro del parque y prácticamente no se aprovechan los pastos comunales. Se observa en este grupo el mayor valor de carga ganadera y la duración del pastoreo es relativamente corta. Por último, se observa un elevado índice de dinámica de la explotación y una opinión favorable sobre el Parque.

Tabla 1: Características medias de los grupos de explotaciones

	Grupo I	Gupo II	Grupo III	Grupo IV	Total
Número de explotaciones	18	20	9	6	53
Variable	Media	Media	Media	Media	Media
Unidades ganaderas	74,1	70,3	92,8	68,8	76,5
Pluriactividad	0,7	0,4	0,2	0,7	0,5
Intensificación de la Reproducción	4,1	3,0	2,7	3,2	3,25
Superficie total (ha)	539,6	512,9	558,2	130,6	435,3
Pastos naturales (ha)	70,5	78,9	72,4	28,7	62,6
Cultivos forrajeros (ha)	13,5	10,1	11,8	86,5	30,5
Tierras dentro del Parque (%)	73,7	56,1	51,2	0,0	45,3
Días de pastoreo	180,0	207,0	325,8	195,0	226,9
Número de descendientes	1,2	0,5	1,1	1,3	1,0
Dinámica de la explotación	5,6	2,2	4,4	4,7	4,2
Continuidad de la explotación	1,7	-0,7	2,0	1,3	1,1
Opinión sobre el Parque	0,9	-0,5	0,3	0,8	0,4
Unidades ganaderas por UTA	45,8	49,6	59,5	49,2	51,0
Carga animal (sobre sup. forrajera)	0,4	0,4	0,4	2,4	0,9

El pastoreo extensivo del ganado es una herramienta eficaz en el mantenimiento de las cualidades ambientales y sociales de éste y otros territorios similares (Bartolomé *et al.*, 2000; Riedel *et al.*, 2004). En tal sentido, dos aspectos resultan esenciales para el mantenimiento de esta actividad en el tiempo, contribuyendo así a las sostenibilidad de estos agro-ecosistemas: la continuidad de las explotaciones y un manejo de la explotación que mantenga e incluso permita aumentar el pastoreo del ganado.

En cuanto a la primera cuestión, comparando los distintos grupos, el número de descendientes aparece como una variable que influye claramente en la dinámica o grado de innovación de las explotaciones y en su continuidad. En este sentido, el Grupo II merece especial atención; es el grupo más grande y con menor número de descendientes, sus posibilidades de continuidad parecen pues muy comprometidas. Siendo el grupo que presenta un uso más extensivo de la tierra, la utilización de grandes áreas de pastos del Parque pueda quedar comprometida en el futuro si estas explotaciones desaparecen.

En segundo lugar, se ha observado que la intensificación del sistema reproductivo y por tanto del manejo general de la explotación conlleva una reducción de la longitud del período de pastoreo. Puede destacarse que dos grupos de explotaciones (grupos I y IV), que representan prácticamente la mitad del censo, si bien resultan marcadamente diferentes en algunos aspectos (el grupo IV es agrícola y posee muy reducida superficie de tierra), resultan similares en otros: poseen un alto número de descendientes, son dinámicas, tienen alta pluriactividad, alto índice de intensificación de la reproducción y la menor cantidad de días de pastoreo. Son pues explotaciones cuyo futuro no parece comprometido a medio plazo, pero que utilizan menos recursos de pastoreo.

Finalmente, el grupo III representa 9 explotaciones que podemos considerar extensivas en el uso de la tierra y el manejo general de la explotación, pero que a su vez se muestran dinámicas o innovadoras en aspecto técnicos y con continuidad asegurada. Pueden considerarse sistemas de explotación “adecuados” desde el punto de vista de la gestión de los recursos naturales del Parque, y como tales debieran ser objeto de políticas de apoyo diferenciadas.

### **AGRADECIMIENTOS**

Proyecto financiado por INIA (RTA 02-086-C2-2) y Gobierno de Aragón (proyecto CONSI+D P085/2000 y CTPI 03/2001). Contribuyeron a este trabajo la “Asociación de Ganaderos de la Sierra y Cañones de Guara” y la “Sociedad Cooperativa Agropecuaria del Sobrarbe (SCLAS)”. Doctorandos fueron patrocinados por Gobierno de Aragón – Fondo Social Europeo (B-108/2003) y CONACYT México.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Bartolomé, J., Franch, J., Plaixats, J., Seligman, N.G., 2000. Grazing alone is not enough to maintain landscape diversity in the Montseny Biosphere Reserve. *Agr. Ecosyst. Environ.* 77, 267-273.
- Riedel, J. L.; Casasús, I.; Sanz, A.; Blanco, M.; Revilla, R.; Bernués, A. 2004. Extensive livestock systems as tools for environmental management: impact of grazing on the vegetation of a protected mountain area. CAB publication (in press).



## **CARACTERIZACION DE LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE GANADO VACUNO EN EL PAÍS VASCO**

Ruiz R., Igarzabal A., Mandaluniz N., Amenabar M., Oregui L.M.  
NEIKER A.B., Apdo. 48, 01080 Vitoria-Gasteiz

### **INTRODUCCIÓN**

El sector de ganado vacuno de carne está experimentando un importante crecimiento en el País Vasco durante los últimos años. Desde las asociaciones de ganaderos se ha expresado la necesidad de contar con un mayor apoyo técnico basado en los datos recogidos sistemáticamente por medio del Control de Rendimientos (CR). En aras de obtener una actividad rentable, la gestión de la explotación debe contemplar los efectos de las interacciones existentes entre nutrición y reproducción (uso de recursos, crecimiento, desarrollo corporal y fisiológico, fertilidad, etc.). El objetivo del presente trabajo es diferenciar los principales sistemas de producción de vacuno de carne existentes en la CAPV.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizó una encuesta a 37 explotaciones de vacuno de carne de la CAPV adscritas a los programas de mejora genética. La información recopilada se refería a una serie de 55 indicadores de los componentes técnico y socio-económico:

- Identificación y características generales de la explotación:
  - Si el titular y el jefe de la explotación son la misma persona (TITJEF=1) o no (0).
  - Dedicación a tiempo completo (COMPLETO=1) o parcial (COMPLETO= 0).
  - Continuidad de la explotación: si (CONTIN=1) o no (CONTIN=0).
- Características de la mano de obra y dedicación (horas de trabajo): tanto de las personas que colaboran en el manejo, como de los asalariados.
- Características del rebaño:
  - Raza de animales (RAZA: Pirenaica=1, Limousin=2, Blonda=3).
  - Numero de animales por categorías: vacas adultas (NADUL); novillas de 1<sup>er</sup> (NNOV1) y de 2<sup>o</sup> año (NNOV2); terneros/-as de menos de 1 año (NTER); animales en cebo (NCEB); animales de reposición (NREP); sementales (NSEM).
- Manejo reproductivo:
  - Inseminación artificial (INSE).
  - Manejo de sementales: número, fechas de retirada de los toros y duración.
- Manejo de la reposición: edades de destete y duración de los periodos de lactancia exclusiva, y de lactancia más aporte de pienso.
- Manejo de la alimentación en cada una de las categorías de animales: Duración de los periodos de: estabulación permanente; estabulación + pastoreo en valle; pastoreo en valle; pastoreo en monte.

El análisis ha consistido en: 1) Revisión y selección de variables para el análisis de tipificación y clasificación; 2) Análisis de Componentes Principales (ACP); 3) Análisis de Cluster (AC); y 4) Descripción de los sistemas de producción resultantes. Para ello se ha empleado el paquete estadístico SAS (SAS, 1990).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

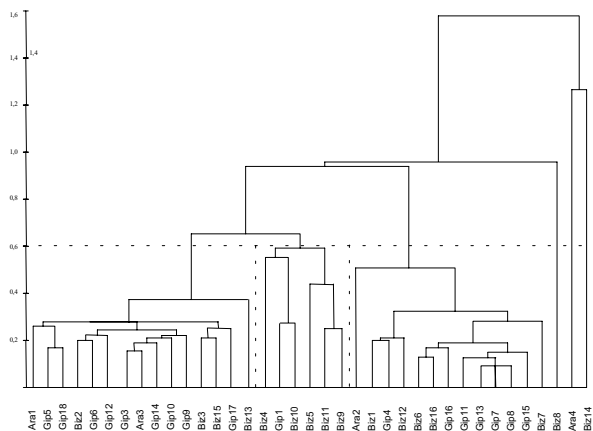
La información recopilada se refería a 10 de explotaciones de raza Pirenaica, 9 de Limousin y 18 de Blonda. En la mayoría de los casos se trataba de explotaciones familiares (n=34, 92%) en las que el titular era el jefe de la explotación

(n=31, 84%). El porcentaje de explotaciones en las que se trata de una actividad a tiempo parcial (43%) fue muy similar al de las de tiempo completo (57%).

En primer lugar se calculó la matriz de correlaciones existente entre las variables empleadas para ver el grado de asociación existente entre ellas. Este análisis permitió poner de manifiesto unas correlaciones altamente significativas ( $P < 0,001$ ) entre la mayoría de las variables relativas al tamaño del rebaño (entre 0,65 y 0,88). A continuación se eliminaron del análisis las variables cuantitativas que presentaron un coeficiente de variación inferior al 50%, lo que indicaría una gran homogeneidad entre las distintas observaciones, y por tanto escasa capacidad discriminadora. De este modo la información relevante se redujo a 21 variables sobre las que se realizó un ACP. Se obtuvieron 5 ejes que explicaban el 60% de la varianza de la muestra, relacionados con:

- Eje 1 = Tamaño del rebaño.
- Eje 2 = Manejo reproductivo.
- Eje 3 = Raza.
- Eje 4 = Pastoreo de valle y lactancia exclusiva de los terneros.
- Eje 5 = Alimentación en pesebre.

La información proporcionada por el ACP relativa a los factores obtenidos se tuvo en cuenta para realizar un AC empleando el método del centroide. La distancia máxima obtenida entre observaciones fue de 1,59 (Figura 1): al establecer un punto de corte en torno a 0,6, se obtuvieron 3 tipologías, y 3 explotaciones quedaron fuera.



**Figura 1.** Resultados del análisis de cluster realizado sobre una muestra de 37 explotaciones de vacuno de carne de la CAPV.

El Sistema 1 (Tabla 1) quedó constituido por explotaciones de tamaño pequeño-medio, con un manejo reproductivo principalmente basado en el uso de sementales, pero que se retiran del rebaño durante 8-9 meses al año para tratar de concentrar partos. Tanto en Pirenaica como en Blonda, tiende a ser una actividad a tiempo completo. El destete de la reposición se produce en torno a los 5 meses en Pirenaica y Limousin, y con 2 meses en Blonda.

El Sistema 2 estaría formado por rebaños grandes de Pirenaica o Limousin, en los que el manejo reproductivo está más equilibrado entre el uso de la IA (50%) y de sementales, quedando el periodo de retirada del rebaño limitado a unos 4 meses al año. La reposición se desteta antes que en el sistema 1 en Pirenaica.

Respecto al Sistema 3 se referiría a explotaciones de un tamaño similar a las del Sistema 1, pero en las que la reproducción se basa casi exclusivamente en el uso de IA. La edad de destete de la reposición tiende a ser aún más temprana en Pirenaica y algo más tardía en Blonda.

**Tabla 1.** Características de los principales sistemas de producción identificados.

Variable	Raza	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 3
N de explotaciones	Pirenaica	3	3	4
	Limousin	3	3	1
	Blonda	9		8
Dedicación a tiempo completo (% de explotaciones)	Pirenaica	66	100	25
	Limousin	33	33	0
	Blonda	88		37
Nº Vacas adultas	Pirenaica	11	47	17
	Limousin	21	47	19
	Blonda	18		11
Nº Toros	Pirenaica	1,7	2,0	0,3
	Limousin	3,0	2,3	1,0
	Blonda	1,4		0,1
Porcentaje de IA	Pirenaica	30	40	90
	Limousin	25	50	90
	Blonda	29		97
Duración del periodo de retirada de los sementales del rebaño (meses)	Pirenaica	9,3	4,7	4,3
	Limousin	8,0	12,0	4,0
	Blonda	8,3		0,5
Edad de destete de reposición (meses)	Pirenaica	5,0	2,0	1,8
	Limousin	5,0	4,7	0,0
	Blonda	2,1		3,6
Duración del periodo de estabulación (meses)	Pirenaica	4,7	5,0	3,3
	Limousin	3,7	4,3	3,0
	Blonda	4,6		4,4
Duración del pastoreo de valle (meses)	Pirenaica	5,3	3,0	8,0
	Limousin	8,3	7,7	9,0
	Blonda	7,4		7,6
Duración del pastoreo de monte (meses)	Pirenaica	2,0	5,5	1,0
	Limousin	0,0	0,0	0,0
	Blonda	0,0		0,0

En las explotaciones de raza Pirenaica, la duración del periodo de estabulación permanente es similar en los sistemas 1 y 2, pero en el 2, explotaciones mayores y con mayor nivel de dedicación, la dependencia del monte es mayor (Mandaluniz, 2003). En el sistema 3 el periodo de estabulación se reduce a 3 meses a costa de una mayor utilización de pastos de valle.

En ninguna de las explotaciones de Limousin y Blonda asignadas a las tipologías encontradas se ha señalado la utilización de los pastos de montaña. Parece observarse una tendencia a que los periodos de estabulación permanente sean ligeramente más largos en el sistema 2, que en el 1, y a su vez que en el 3.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mandaluniz, N. 2003. Pastoreo del ganado vacuno en zonas de montaña y su integración en los sistemas de producción de la CAPV. Tesis doctoral, 239 p.  
SAS User's Guide. 1990. SAS Inst., Inc., Cary, NC: USA.

## PASTOREO EN EL PARQUE NATURAL DE GORBEIA

### 1. OFERTA Y CALIDAD FORRAJERA

Mandaluniz, N.; Igarzabal, A.; Garcia, A.; Oregui, L.M.

NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

#### INTRODUCCIÓN

Los pastos de las zonas de montaña presentan una gran heterogeneidad, tanto espacial como temporal, en relación con la oferta forrajera que proporcionan y a la calidad de la misma. En zonas de montaña del País Vaco la productividad de las comunidades herbáceas es mayor en los meses de julio-agosto (Albizu, 2003). Además, esta variación en su crecimiento determina importantes diferencias en cuanto a la fenología de las plantas que las constituyen, lo que condiciona su valor nutritivo, principalmente el contenido de proteína bruta (PB) y digestibilidad. Estas modificaciones en cantidad y calidad de los recursos, afectan a las estrategias de pastoreo de los animales y sus rendimientos, pero también condicionan las pautas de uso más apropiadas para estas áreas de monte.

A partir de estas premisas, los objetivos del presente trabajo fueron determinar la disponibilidad (medida como altura de la hierba) y la calidad nutritiva de los recursos pastables, considerando la proteína bruta (PB), fibra neutro detergente (FND) y digestibilidad de la materia orgánica (DMO), en cuatro zonas del Parque Natural del Gorbeia (PN-Gorbeia) a lo largo de la estación de pastoreo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el PN-Gorbeia durante el período de pastoreo del año 2003. Se seleccionaron 4 zonas de pastoreo, o Unidades de Uso (UDU), representativas del mismo cuyas características se detallan en la Tabla 1. Información complementaria de estas UDU se aporta en Mandaluniz *et al.* (2005). En dichas áreas se diferenciaron 5 comunidades vegetales (i) pasto denso abierto (Pa) que se desarrolla en zonas llanas con suelo profundo donde predominan las gramíneas; (ii) brezal abierto (Br) compuesto por un mosaico de especies leñosas (ericáceas) en una cobertura menor del 50%, y pasto denso; (iii) brezal cerrado (BAH) con una cobertura leñosa superior al 50% con predominio de *Ulex europaeus*, *ericaceas* y helecho común (*Pteridium aquilinum*) (iv) Pastos rocosos, pasto desarrollado en zonas de suelo poco profundo y con abundantes afloramientos rocosos y (v) Pastos de zonas arboladas. El muestreo del pasto herbáceo de las comunidades Pa, Br y BAH, se realizó mensualmente entre los meses de junio y octubre, recogiendo mediante corte con tijera, un total de 45 muestras. La altura de la hierba (cm) se determinó mediante un bastón con precisión de 0,5 cm.

**Tabla 1.** Características de las zonas de pastoreo estudiadas.

UDU	Vertiente	Suelo	Altitud
<b>Aldamiñape (Al)</b>	Norte	Calizo	800-1200
<b>Kurtzegan (Ku)</b>	Norte	Silíceo	700-1100
<b>Baltzolaga (Ba)</b>	Sur	Calizo	700-1000
<b>Gorostiano (Go)</b>	Sur	silíceo	800-1200

Tras el secado y molido de las muestras, el nitrógeno se determinó mediante la técnica de Kjeldahl (A.O.A.C., 1999) y se corrigió a PB mediante el factor 6,25; entre los diferentes componentes de la fibra sólo se estimó la FND (van Soest, 1982) utilizando la metodología Ankom. La digestibilidad de la materia orgánica (DMO) se

estimó a partir de los parámetros de producción de gas, de acuerdo a la ecuación de estimación propuesta por Menke y Steingass (1988).

Todos los parámetros se analizaron mediante un análisis de varianza (SAS, 2001) considerando como efectos fijos la UDU (Aldamiñape (Al), Kurtzegán, (Ku) Baltzolaga (Ba) y Gorostiano (Go)), la comunidad vegetal (Pa, Br y BAH) y el momento de muestreo (junio, julio, agosto, septiembre y octubre), y sus interacciones, en el caso de la altura del pasto.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La altura media del pasto fue de  $3,3 \pm 2,6$  cm, estando afectada significativamente ( $P < 0,001$ ) por los distintos efectos simples considerados (UDU, mes y comunidad vegetal) (Tabla 2) así como por sus interacciones. Esta altura se redujo entre junio y agosto, para posteriormente mantenerse o incrementar ligeramente al final del período controlado. El pasto herbáceo de las zonas con una mayor cobertura arbustiva presentaron mayores alturas de pasto ( $BAH > Br > Pa$ ), que en el caso del BAH, se corresponde con una menor presión de pastoreo, pero no así en el Pa y Br (Mandaluniz *et al.*, 2005).

**Tabla 2.** Altura de la hierba, Digestibilidad de la Materia Orgánica (DMO), Proteína Bruta (PB) y Fibra Neutro Detergente (FND) en las distintas zonas de estudio a lo largo de la estación de pastoreo (medias de mínimos cuadrados  $\pm$  e.s.)

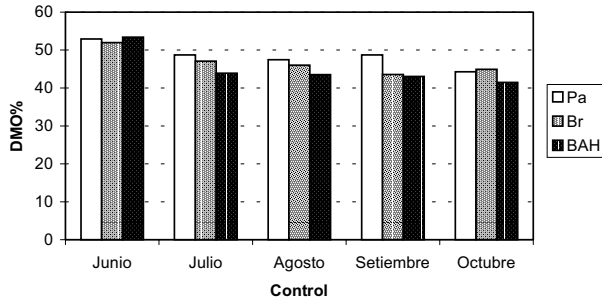
Altura de la hierba (cm)			DMO (g/100g MS)		
UDU ***	Mes ***	Comunidad ***	UDU ***	Mes ***	Comunidad **
Al	Jun. 4,4 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	Pa 2,8 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	Al	Jun. 54,7 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	Pa 51,5 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>
Ku	Jul. 3,5 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	Br 3,2 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	Ku	Jul. 48,0 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	Br 48,2 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>
Ba	Ago. 2,5 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	BAH 3,5 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>	Ba	Ago. 48,2 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	BAH 45,8 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>
Go	Sep. 2,6 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>		Go	Sep. 45,6 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	
	Oct. 2,9 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>			Oct. 46,0 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	
PB (g/100g MS)			FND (g/100g MS)		
UDU ***	Mes **	Comunidad **	UDU ***	Mes *	Comunidad **
Al	Jun. 14,4 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	Pa 14,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	Al	Jun. 60,6 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	Pa 61,3 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>
Ku	Jul. 11,2 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	Br 12,1 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	Ku	Jul. 64,6 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	Br 64,2 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>
Ba	Ago. 10,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	BAH 10,4 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	Ba	Ago. 63,9 $\pm$ 1,2 <sup>ab</sup>	BAH 68,0 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>
Go	Sep. 11,9 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>		Go	Sep. 65,9 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup>	
	Oct. 12,9 $\pm$ 0,8 <sup>ab</sup>			Oct. 67,5 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>	

\*:  $P < 0,05$ ; \*\*:  $P < 0,01$  y \*\*\*:  $P < 0,0001$

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada columna y para un mismo parámetro.

La hierba presentó unos valores medios de PB, FND y DMO de  $11,2\% \pm 3,1$ ,  $66,2\% \pm 5,9$  y  $46,9\% \pm 5,4$ , respectivamente. Los valores de PB y DMO son menores a los descritos por Albizu (2003) para estos pastos, lo que pudo deberse a la fuerte sequía en el verano de 2003. La calidad nutritiva de la oferta herbácea presentó diferencias significativas en función de la UDU, el mes de muestreo y la comunidad vegetal (Tabla 2). Así, coincidiendo con lo citado por Albizu (2003), el pasto de las zonas calizas (Al y Ba) presentó una mayor calidad nutritiva (valores significativamente superiores de PB y DMO) que el de las zonas silíceas (Tabla 2) y coincidió con zonas con una mayor carga ganadera (Mandaluniz *et al.*, 2005)

La calidad nutritiva del componente herbáceo presentó unos niveles máximos de PB y DMO en junio, disminuyendo el valor de ambos parámetros en períodos



**Figura 1.** Valores medios de digestibilidad de la materia orgánica, expresada en porcentaje sobre materia seca, de las distintas comunidades vegetales analizadas a lo largo de la estación de pastoreo.

mas avanzados de la estación de pastoreo ( $p < 0,05$ ) (Tabla 2, Figura 1). Esta evolución coincidiría con la experimentada por el estado fenológico del pasto, y por tanto con los contenidos de pared celular (FND), también observados. En términos generales el pasto abierto presentó una mayor calidad nutritiva (valores superiores de PB y DMO)

a la de los pastos arbustivos (Tabla 2), lo que podría estar relacionado con la menor altura de pasto observada a lo largo del año, pero también a una diferente composición florística, con un mayor contenido de dicotiledóneas como el descrito por Mandaluniz (2003)

En cuanto a la evolución de la calidad de la hierba, si bien todas las comunidades se ajustan al patrón anteriormente citado de evolución de la calidad de la hierba, la comunidad Br, con un grado de recubrimiento arbustivo  $< 50\%$ , es la que mantiene unas calidades más homogéneas, igualando a las del Pa en la parte final de la estación de pastoreo.

Esta heterogeneidad, tanto temporal como espacial de la oferta forrajera, habría que contrastarla con la calidad de la dieta seleccionada por los animales, así como con la estrategia de pastoreo desarrollada para conseguirla. Como tal, las características del pasto, que habría que confirmar en series temporales mayores, es un indicador más para el ajuste de las cargas ganaderas, teniendo en cuenta aspectos productivos y de conservación de estos recursos.

## AGRADECIMIENTOS

La presente comunicación se ha realizado en el marco del proyecto "RTA-02-086-C2" financiado por el INIA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Albizu, I. (2003). Estudio de la estructura y productividad de los pastos de montaña: Pautas para el uso sostenible de en el área de Gorbeia, Univ. País Vasco (EHU-UPV), Leioa.
- A.O.A.C. (1999). Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 16<sup>th</sup> Ed. A.O.A.C. Int. Gaithersburg (USA).
- Mandaluniz, N (2003). Pastoreo del ganado vacuno en zonas de montaña y su integración en los sistemas de producción de la CAPV. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza.
- Mandaluniz, N; Igarzabal, A; Perez de Arenaza, A; Oregui, LM (2005). Pastoreo en el Parque Natural de Gorbeia. 2. Cargas ganaderas. XI Jornadas sobre Producción Animal.
- Menke, K.H., Steingass, H. (1988). Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. Ani. Res. Dev. 28: 7-55
- SAS (2001). SAS/Stat User's Guide, Cary, NC, USA
- Van Soest, P.J. (1982). Nutritional ecology of the ruminant. O & B Books Inc., Cornell University, Oregon (USA).

## PASTOREO EN EL PARQUE NATURAL DE GORBEIA.

### 2. CARGAS GANADERAS

Mandaluniz, N.; Igarzabal, A.; Pérez de Arenaza, A.; Oregui, L.M.  
NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

### INTRODUCCIÓN

Gran parte del ganado, ovino lechero, vacuno de carne y equino, que utiliza de forma extensiva las áreas de montaña en le País Vasco, realiza un pastoreo en libertad desde finales de primavera hasta otoño. Las distintas estrategias de pastoreo de cada especie conllevan una utilización espacial heterogénea del terreno disponible (Marijuán, 1996). El conocimiento de estas estrategias de pastoreo resulta necesario para poder explicar sus rendimientos así como para determinar las pautas de uso mas apropiadas, para tratar de definir sistemas de gestión que se adapten a la heterogeneidad en la oferta forrajera, tanto espacial como temporal, que presentan los pastos.

El objetivo del trabajo fue estudiar la carga ganadera en cuatro zonas del Parque Natural de Gorbeia (PN-Gorbeia) a lo largo de la estación de pastoreo, analizando la contribución de las distintas especies y la presión ejercida sobre las distintas comunidades vegetales.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el PN-Gorbeia durante el período de pastoreo del año 2004, centrándose en 4 áreas de pastoreo, que corresponden a cuatro zonas de pastoreo o Unidades de Uso (UDU), representativas del conjunto del parque. Las características de la zona vienen detalladas en la Tabla 1. En dichas áreas se definieron cinco comunidades vegetales: pasto denso abierto (Pa), brezal abierto (Br) y brezal cerrado (BAH), pasto en roquedo (Roq) y pasto arbolado (Arb).

**Tabla 1.** Características de las Unidades de Uso (UDU) estudiadas.

UDU	Superficie (ha)	Especies presentes			
		ovino	vacuno	equino	caprino
<b>Aldamiñape</b>	204,2	Sí	Sí	Sí	Sí
<b>Kurtzegan</b>	115,8	Sí	Sí	Sí	Sí
<b>Baltzolaga</b>	61,1	Sí	Sí	Sí	No
<b>Gorostiano</b>	58.4	Sí	Sí	Sí	No

La determinación de la carga ganadera se realizó mensualmente, entre junio y octubre, ambos incluidos, mediante transectos fijos en cada una de las zonas de pastoreo. Estos transectos se recorrieron de forma alterna mañana-tarde, durante las horas de máxima actividad de pastoreo, de acuerdo con lo observado en trabajos previos (Mandaluniz, 2003; Marijuán, 1996). Durante el recorrido se anotaba, utilizando un sistema GPS, la localización de los animales que se encontraban dentro de la zona de estudio, la especie a la que pertenecían así como el radio en el que se extendía el rebaño o grupo de animales de los que formaba parte. Estos datos se descargaban posteriormente para su tratamiento mediante el programa ArcView (Ver. 3.1). En el mismo se introdujo la información relativa a la distribución de las distintas comunidades vegetales anteriormente definidas, recogidas en sobre el terreno mediante el mismo sistema GPS.

La información disponible de número de animales se transformó en UGM, estimándose las presiones de pastoreo (UGM/ha) de las distintas UDU y

comunidades y para las distintas especies. Este último dato se analizó mediante análisis de varianza (SAS, 2001) considerando como efectos fijos la zona de pastoreo (Aldamiñape, Kurtzegan, Baltzolaga y Gorostiano), y el momento de muestreo (junio, julio, agosto, septiembre y octubre). La variabilidad de la presión de pastoreo sobre las diferentes comunidades vegetales en las distintas UDU, y el número limitado de observaciones disponibles en un año ha llevado a que su análisis sea meramente descriptivo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

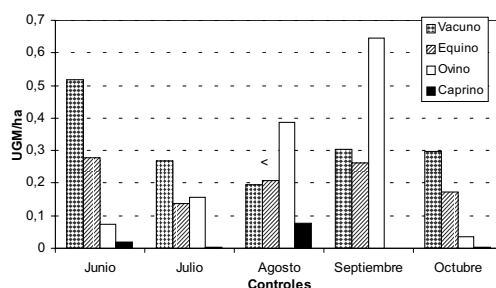
La carga media del conjunto de la estación de pastoreo fue de 0,75 UGM/ha. La contribución a la carga total de las distintas especies fue similar, con valores medios de 0,32 UGM/ha, 0,26 UGM/ha y 0,21 UGM/ha, para el vacuno, ovino y equino, respectivamente. La presencia de caprino es muy escasa y esporádica, inferior en todo momento a 0,1 UGM/ha (Figura 1), estando únicamente presente en las UDU de la vertiente norte.

En la Tabla 2 se resumen los datos generales de la carga ganadera observada en las distintas zonas de estudio y a lo largo de la estación de pastoreo. La carga media es similar para el conjunto de zonas ( $P < 0,05$ ), si bien mas baja en la UDU de Kurtzegan. Igualmente el momento de control no tiene un efecto significativo ( $P > 0,05$ ) sobre la carga, si bien tiende a ser mayor en setiembre, y menor en octubre. Esta evolución de las cargas sería atribuible a dos factores; por un lado, la posibilidad de utilizar pastos de mayor altura en los meses centrales del verano, lo que reduciría la utilización de estas UDU situadas a una altitud media, junto con la retirada de ciertos animales como el vacuno (Mandaluniz, 2003) y el ovino a final de la estación de pastoreo.

**Tabla 2.** Valores medios de carga ganadera zonas de estudio.

Carga ganadera general			
Zona	Mes		
$P > 0,05$	$P > 0,05$		
Aldamiñape	0,96	Junio	0,89 <sup>ab</sup>
Kurtzegan	0,50	Julio	0,58 <sup>ab</sup>
Baltzolaga	0,87	Agosto	0,87 <sup>ab</sup>
Gorostiano	0,86	Setiembre	1,15 <sup>a</sup>
		Octubre	0,51 <sup>b</sup>

Diferentes superíndices indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) dentro de la misma columna.



**Figura 1.** Carga ganadera media de especies consideradas a lo largo de la estación de pastoreo

Esto último se observa al analizar la evolución de las cargas, por especie, (Figura 1) a lo largo de la estación de pastoreo. El patrón de utilización de las distintas especies es diferente, mientras el vacuno tiende a una mayor presión de pastoreo al inicio y final de la estación, el ovino se concentra en la parte central de la misma, siendo el equino el que realiza un uso más homogéneo.

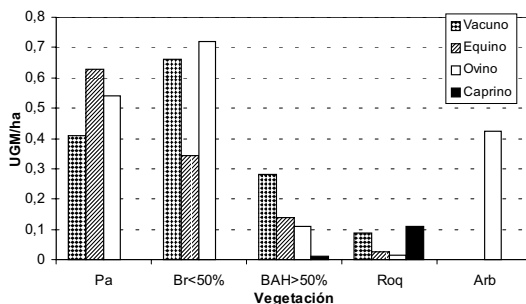
En cuanto a la influencia de las características de las zonas utilizadas, se ha analizado el efecto del tipo de vegetación sobre la utilización de la superficie disponible, en los momentos de máxima actividad de pastoreo (Tabla 3). Uno de los aspectos mas destacables es el uso que realizan los animales de las zonas con una



densidad de arbustos inferior al 50% (Br), que es similar a la que realizan de las zonas de pasto abierto. La utilización de este tipo de superficies con una cobertura media de arbustos ya había sido descrita por Mandaluniz (2003), especialmente en periodos avanzados de la estación de pastoreo y puede ser debida a la calidad nutritiva del pasto que crece en estas zonas, con valores similares al del pasto abierto (Mandaluniz *et al.*, 2005).

**Tabla 3.** Presión de pastoreo (UGM/ha) de las distintas comunidades vegetales

Comunidad	ha	Presión UGM/ha
Pa	43	1,57
Br	43	1,72
BAH	289	0,54
Roq	56	0,27
Arb	9	0,44



**Figura 2.** Presión de pastoreo de las especies estudiadas sobre las distintas comunidades vegetales.

La confirmación del valor que los animales dan a estas comunidades en estudios que abarquen un mayor número de años plantearía la necesidad de evaluar las acciones de desbroce que se pueden llevar a cabo en las mismas y la necesidad de reintroducir practicas de manejo del territorio y los animales que posibiliten la persistencia de estas comunidades mixtas, que además presentan un importante papel ecológico.

Pero además la utilización de las distintas comunidades vegetales es diferente para cada especie animal. Se observa que el vacuno y el ovino tienden a realizar una mayor uso del Br que de los pastos abiertos, con presiones medias de 0,66 vs 0,41 y 0,72 vs 0,53 UGM/ha, para ambas comunidades y especies, respectivamente. Por el contrario, el equino realiza una menor presión de pastoreo sobre los pastos arbustivos (Br) que sobre los abiertos, 0,34 vs. 0,66 UGM/ha (Figura 2). Por otro lado, la utilización de las áreas del brezal cerrado (BAH) es superior en el vacuno (0,28 UGM/ha), que en el equino y ovino (0,14 y 0,11 UGM/ha) respectivamente, aun teniendo una presencia similar en el conjunto de las zonas estudiadas. Los pastos rocosos, por su parte, son utilizados prioritariamente por el caprino. En las horas de control y en las zonas arboladas, únicamente se ha observado la presencia del ovino y exclusivamente en el control de agosto.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se enmarca en el proyecto INIA RTA-02-086-C2. Nuestro agradecimiento a los ganaderos de las Asociaciones de Montaña colaboradoras.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Mandaluniz, N. 2003. Pastoreo del Ganado Vacuno en zonas de montaña y su integración en los sistemas de producción de la CAPV. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza.
- Marijuán, S. 1996. El pastoreo en comunales. Estudio del comportamiento de las ovejas y la utilización de los recursos disponibles. Tesis Master, IAM Zaragoza.
- SAS. 1988. SAS/STAT User's guide: Statistics (Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary. NC.

## DESARROLLO DE UN MODELO DE SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA DE REBAÑO EN SISTEMAS EXTENSIVOS DE VACUNO DE CARNE

R. Ruiz<sup>1</sup>, D. Villalba<sup>2</sup>, A. Bernués<sup>3</sup>

<sup>1</sup>NEIKER A.B., Vitoria-Gasteiz; <sup>2</sup>Universitat de Lleida; <sup>3</sup>CITA Gobierno de Aragón.

### INTRODUCCIÓN

En las explotaciones ganaderas extensivas el número de factores involucrados en su funcionamiento es muy grande y las interacciones entre ellos complejas. En consecuencia, el desarrollo de herramientas para el apoyo a la toma de decisiones requiere la integración de un gran número de elementos. Además de los factores técnicos, productivos, biológicos o ecológicos, es preciso considerar los de tipo social y económico para su análisis desde una perspectiva global. Por otro lado, los modelos de alimentación y reproducción animal que representan procesos biológicos individuales, aunque rigurosos desde el punto de vista científico, no son directamente aplicables cuando se pretende estudiar la dinámica de las explotaciones ganaderas. Para ello es fundamental integrar las diferentes etapas del ciclo productivo por el que pasan los animales de un rebaño, y las interacciones existentes entre ellas.

La dinámica del rebaño se simula mediante modelos poblacionales que incorporan las características de este (número de animales, estructura del rebaño en lotes, intervalo entre partos, tasas de reposición, mortalidad, etc.). De este modo las salidas de los modelos individuales sirven de entrada para el de dinámica del rebaño, y viceversa.

El objetivo del presente trabajo ha sido el diseño de un modelo de simulación que permita predecir a medio-largo plazo las dinámicas de población existentes en los rebaños de vacuno de carne de acuerdo a las principales prácticas de manejo<sup>1</sup>.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para desarrollar el modelo de rebaño se ha empleado el programa Stella 8.0 v. Research (Richmond, 2001), el cual posibilita la representación gráfica de los componentes del modelo en diferentes tipos de compartimentos, y la introducción de las ecuaciones que rigen los flujos existentes entre ellos, variables y parámetros sin necesidad de usar un lenguaje de programación.

El modelo diseñado (Figura 1), que se ejecuta tomando el día como unidad básica de tiempo, considera el rebaño en diferentes lotes de animales (ANOESTRO) a partir de distintas duraciones de anoestro post parto (APP), el cual estaría condicionado por el manejo de la alimentación a través de la condición corporal. Transcurrido el periodo de anoestro, las vacas entran en ciclicidad cada 21 días, diferenciándose las CÍCLICAS, o vacas en celo, de las que se encuentran CICLANDO. De este modo durante la época de cubriciones, comprendida entre las fechas de entrada y salida de los toros al rebaño, se considera que cada día hay un número potencial de hembras que pueden quedar GESTANTES. Este número es función de los siguientes parámetros: el número de sementales presentes, el número de saltos diarios que puede realizar cada uno, y la fertilidad de cada salto.

La duración de la gestación se estima según una distribución normal (media=290 días, std=10). Transcurrido ese tiempo paren (PARIDAS) e inician un

---

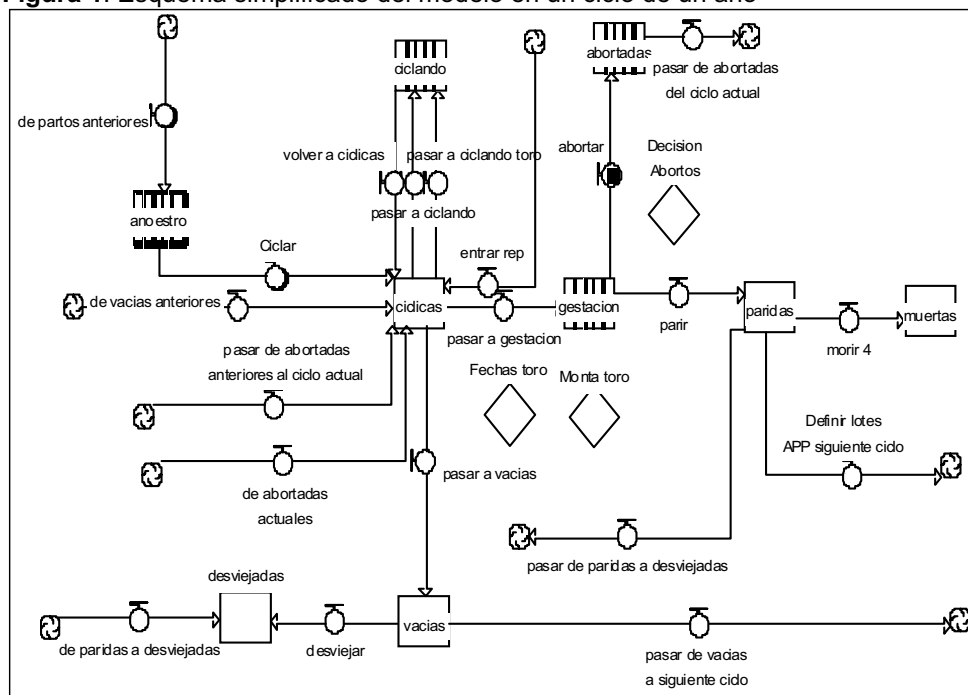
<sup>1</sup> Este trabajo se enmarca en el proyecto INIA RTA03-029-C2: Desarrollo de un Sistema de Apoyo a la Toma de Decisiones para la gestión sostenible de sistemas ganaderos extensivos de rumiantes y la evaluación de políticas en zonas de montaña.

nuevo periodo de ANOESTRO. La incidencia de abortos se asume de manera aleatoria dentro de unos rangos de probabilidad prefijados de antemano por el usuario. Si este proceso tiene lugar dentro de la misma época de cubriciones, las vacas ABORTADAS podrían entrar en ciclicidad transcurrido un periodo de tiempo determinado; si por el contrario ya se hubieran retirado los sementales del rebaño, lo harán para la siguiente época de cubriciones. Las vacas que hubieran quedado VACIAS al final de una época de cubriciones se considera que entran en ciclicidad nuevamente al inicio de la próxima.

La representación de manera realista de procesos tales como la mortalidad o el desvieje supone un problema cuando se trabaja en lotes de animales, por cuanto dichos procesos pueden suceder en realidad en cualquier fase del ciclo productivo. En el presente prototipo la solución planteada ha consistido en relacionar la mortalidad con las vacas paridas hasta completar el número de animales determinado por la tasa de mortalidad fijada, y por otro lado, asumir que el desvieje se realiza del lote de VACIAS una vez transcurrida la época de cubriciones.

Asimismo, el modelo incorpora la entrada de los animales de REPOSICIÓN en el rebaño de manera escalonada en el grupo de animales en ciclicidad según una tasa determinada por el usuario.

**Figura 1.** Esquema simplificado del modelo en un ciclo de un año



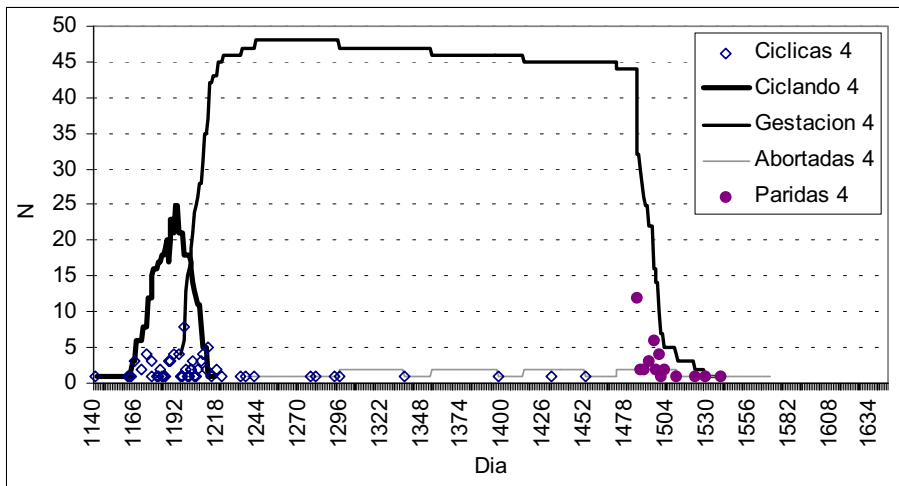
Parámetros como tasa de mortalidad, desvieje y otros de carácter reproductivo tales como fertilidad, APP, etc., pueden ser incluidos fácilmente con un carácter estocástico.

Además de la estructura en compartimentos, los flujos de animales y las ecuaciones que los rigen, se ha diseñado una interfase de usuario que permite la modificación de variables y parámetros y la ejecución del modelo de manera sencilla (Figura 2).

## RESULTADOS

Con el objeto de presentar el funcionamiento del modelo se ha replicado este ciclo hasta completar un total de 7 años para un rebaño de 47 vacas iniciales. Se han fijado 5 lotes de animales iniciales según la duración de su APP: 50% con 45 días; 20% con 60 días; 15% con 90 días; 10% con 150 días y 5% con 300 días de anoestro. La época de cubriciones tiene lugar entre los días 100 y 160 de cada año, disponiéndose de 2 toros (4 saltos por día y 90% de fertilidad para cada salto). La probabilidad de incidencia de abortos es del 10%, con un 15% de reposición anual, 10% de desvieje y 5% de mortalidad.

**Figura 2.** Resultados para los principales lotes de animales a lo largo del cuarto año de simulación



Si bien se considera que el funcionamiento del modelo es satisfactorio, se está profundizando en su mejora y validación. Posteriormente se considerará su traducción a Visual Basic para superar los problemas encontrados y facilitar su integración con los modelos RUMINANT (Herrero, 1997) y VACUN (Villalba, 2000). La integración de modelos de alimentación y de dinámica de rebaño permitirá incorporar las relaciones existentes entre alimentación y reproducción, así como evaluar el impacto potencial de distintas estrategias de manejo en los rebaños de vacas nodrizas a medio-largo plazo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hannon, B. y M. Ruth (1994) Dynamic Modeling, Springer Verlag, New York.
- Herrero M., 1997. Modelling dairy grazing systems: an integrated approach. PhD Thesis. University of Edinburgh, 282p.
- Richmond B., 2001. Stella, an introduction to systems thinking. High Performance Systems, Inc., 165pp.
- STELLA. (2004), info en: <http://www.iseesystems.com/index.aspx>
- Villalba D. 2000. Construcción y utilización de un modelo estocástico para la simulación de estrategias de manejo invernal en rebaños de vacas nodrizas. Tesis Doctoral, Universitat de Lleida, 154 p.

## RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS DE OVEJAS Y CORDEROS DE LA RAZA CHURRA TENSINA SOMETIDOS A DIFERENTES ESTRATEGIAS DE MANEJO EN PRIMAVERA

A. Sanz, J. Álvarez, E. Balmisse, R. Delfa, R. Revilla, M. Joy  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas tradicionales de producción ovina se basan en el destete temprano de los corderos (30-45 días) y el cebo con concentrado, con el objetivo comercial de obtener canales ligeras tipo "Ternasco". Esta dinámica de intensificación se ha establecido también en la mayoría de explotaciones ovinas del Pirineo Central, lo que ha supuesto una drástica reducción en el aprovechamiento de los amplios recursos pastorales disponibles en las zonas de montaña. Esta tendencia entra en conflicto con las actuales directrices de la Política Agraria Común, que promueven un mayor uso de los recursos pastorales, así como el mantenimiento de razas autóctonas y en peligro de extinción, como es el caso de la raza Churra Tensina.

En nuestras condiciones de montaña seca, un sistema de pastoreo asociado además a la cría de una raza autóctona podría relacionarse con unos bajos rendimientos productivos tanto en las ovejas como en sus corderos.

En este trabajo se analiza la viabilidad de la extensificación ovina en zonas de montaña, a través de la comparación de los resultados obtenidos en cuatro estrategias de manejo practicadas durante la lactación en ovejas Churra Tensina con parto en primavera.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo con 48 ovejas con parto en primavera, madres de corderos machos simples (fecha media de parto: 25/03/2004), ubicadas en la finca experimental "La Garcipollera" (Pirineo Oscense, 945 m).

Después del parto, los animales se distribuyeron en cuatro lotes (n=12). (1) *Estabulación permanente (ESTAB)*: ovejas y corderos estabulados, recibiendo una mezcla completa comercial (8.63 MJ EM/kg MS, 110 g PB/kg MS) ad libitum; (2) *Intensivo (INT)*, manejo más común en Aragón): las ovejas tuvieron acceso a pastoreo en pradera natural de 8 a 16:30 h y permanecieron estabuladas con sus corderos el resto del tiempo, recibiendo cada una 0,5 kg/día de harina de cebada y paja de cebada ad libitum; (3) *Extensivo con suplemento para el cordero (EXT-S)*: ovejas y corderos en pastoreo permanente; (4) *Extensivo (EXT)*: ovejas y corderos en pastoreo permanente. Los tres primeros lotes dispusieron de pienso comercial ad libitum para corderos (185 y 175 g PB/kg MS, 1<sup>er</sup> mes y engorde, respectivamente).

Los corderos de los lotes INT y ESTAB se destetaron a los 45 días de edad y se cebaron hasta alcanzar el peso vivo sacrificio (22-24 kg, categoría comercial Ternasco). Los corderos de los lotes EXT y EXT-S permanecieron junto a sus madres en las praderas (0.5 ha/lote; 665 y 189 g/kg MS de gramíneas y leguminosas, respectivamente) hasta el momento del sacrificio (22-24 kg PV). Las ovejas destetadas se mantuvieron en pastoreo hasta la subida a puerto (22/06/04).

Se registró el PV de los animales semanalmente, y la condición corporal (CC) de las ovejas al parto, en el momento del destete y a la subida a puerto. La producción de leche se estimó quincenalmente mediante ordeño mecánico con inyección de oxitocina y se analizó su composición química. Se tomaron muestras semanales de sangre para determinar los niveles de progesterona mediante RIA. Se consideró que

la actividad ovárica y luteal (ciclicidad) se iniciaba cuando se detectó la primera elevación de progesterona por encima de 1 ng/ml.

Tras el sacrificio de los corderos, se pesaron las canales en caliente y tras el oreo de 24 horas, y a continuación se tomaron las medidas zoométricas de conformación, se separaron sus depósitos adiposos (mesentérico-omental, pélvico-renal) y se realizó el despiece normalizado de las regiones anatómicas de la canal.

Finalmente, se realizó un estudio económico preliminar incluyendo el coste de alimentación de ovejas y corderos y los ingresos por la venta de los corderos.

Los resultados del ensayo se analizaron con el paquete estadístico SAS (v. 8.02).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución de pesos y reservas corporales de las ovejas a lo largo de la primavera fue similar en las 4 estrategias de manejo (Tabla 1). Sin embargo, la producción lechera bruta fue superior en el lote EXT-S (Figura 1). El lote ESTAB presentó el mayor porcentaje graso en leche, debido probablemente a la inclusión de grasa protegida en la ración (Bocquier y Caja, 2001), y el menor porcentaje proteico.

La actividad sexual del ganado ovino en nuestras latitudes se prolonga de julio a marzo. En este ensayo, el 45% de las ovejas reiniciaron la actividad ovulatoria fuera de la estación reproductiva (Tabla 1 y Figura 2), independientemente del tipo de estrategia, destete (a 45 ó 70 d) o presencia del cordero (restringida (INT) o continua (EXT, EXT-S, ESTAB)), confirmando que el manejo extensivo no presentaría repercusiones negativas en este sentido. Este porcentaje de ovejas cíclicas fue similar al observado en otras razas explotadas en latitudes similares (Forcada et al., 1992; Folch y Alabart, 1999). Únicamente se observó una correlación negativa de la duración del periodo de aciclia con la CC de las ovejas al destete ( $r = -0.53$ ,  $p < 0.05$ ).

Los corderos de los lotes EXT-S e INT mostraron un crecimiento superior a los de los lotes EXT y ESTAB, alcanzando el mismo peso comercial en un menor periodo de tiempo ( $p < 0.05$ ). El crecimiento de los corderos estuvo relacionado con la producción lechera bruta de sus madres ( $r = 0.54$ ,  $p < 0.001$ ).

Las canales del lote EXT presentaron el menor rendimiento comercial del ensayo, aunque fue superior al observado por Tort et al. (2004) en corderos similares. No se observaron diferencias significativas en el peso de los depósitos adiposos de la canal entre tratamientos, como tampoco en las categorías comerciales de despiece estudiadas en la media canal izquierda (60, 20 y 20%, para 1ª, 2ª y 3ª categoría, respectivamente), ratificando la ausencia de diferencias entre las canales de corderos criados en pastoreo y en cebadero.

Teniendo en cuenta únicamente los costes de alimentación y los ingresos por la venta de los corderos, el lote ESTAB presentó los peores márgenes, en términos de €/kg PV cordero vendido, siguiéndole en este orden los lotes INT, EXT-S y EXT.

De estos resultados se desprende que el aprovechamiento de praderas en primavera con ovejas lactantes de razas adaptadas al medio físico en que se explotan puede ser una alternativa sostenible para obtener productos de alta calidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bocquier F., Caja G., 2001. INRA Prod Anim, 14(2): 129-140.
- Folch J., Alabart J.L., 1999. ITEA Vol. Extra 20(2): 651-653.
- Forcada F., Abecia A., Sierra I., 1992. Small Rum Res 8(4): 313-325.
- Tort S., Delfa R., Bleriot G., Bergua A., Lahoz, F., Joy M., 2004. Actas de las XXIX Jornadas Científicas y VIII Internacionales de la SEOC: 113-115.

**AGRADECIMIENTOS:** a Ángel Bergua, Fidel Lahoz, Javier Casaus, Javier Sarasa, Miguel Angel Pueyo y José Manuel Acín. Financiación: proyecto INIA RTA 03-031.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos en las diferentes estrategias de manejo analizadas.

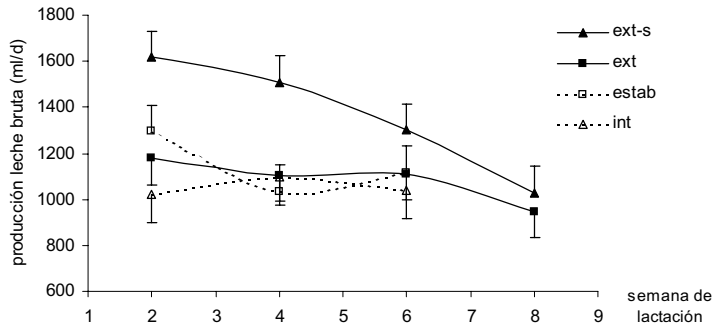
ESTRATEGIA DE MANEJO (n)	EXT (12)	EXT-S (12)	INT (11)	ESTAB (12)	e.s.d.	Sign.
<b>Ovejas</b>						
PV parto (kg)	44.2	42.7	46.1	43.9	2.9	NS
PV destete (kg)	46.1	45.5	46.0	46.2	2.8	NS
PV subida puerto (kg)	45.9	45.6	43.9	44.2	2.6	NS
CC parto	2.6	2.8	2.7	2.7	0.2	NS
CC destete	2.4	2.6	2.6	2.7	0.2	NS
CC subida puerto	3.0	3.2	3.1	3.1	0.2	NS
Producción leche bruta (ml/d)	1078 <sup>a</sup>	1386 <sup>b</sup>	1072 <sup>a</sup>	1130 <sup>a</sup>	174	*
Grasa (g/l)	49.6 <sup>a</sup>	46.1 <sup>a</sup>	50.2 <sup>a</sup>	58.9 <sup>b</sup>	3.2	***
Proteína (g/l)	50.0 <sup>b</sup>	48.0 <sup>b</sup>	49.4 <sup>b</sup>	41.9 <sup>a</sup>	1.7	***
Nº ovejas cíclicas a subida puerto	3	6	6	6	-	NS
Parto-1ª ov. (ovejas cíclicas) (d)	81.3	74.5	71.5	76.0	9.3	NS
<b>Corderos</b>						
PV nacimiento (kg)	3.7	3.8	3.9	3.8	0.3	NS
Edad sacrificio (d)	77 <sup>b</sup>	62 <sup>a</sup>	65 <sup>a</sup>	72 <sup>b</sup>	4	***
Ganancia media diaria (g)	252 <sup>a</sup>	302 <sup>c</sup>	289 <sup>bc</sup>	274 <sup>ab</sup>	18	**
Rendimiento comercial (%)#	47.5 <sup>a</sup>	51.3 <sup>c</sup>	49.0 <sup>ab</sup>	49.5 <sup>bc</sup>	1.3	**
Grasa mesentérico-omental (g)	496.9	508.5	509.4	528.9	52.5	NS
Grasa pélvico-renal (g)	214.1	279.5	291.0	273.3	44.8	NS
Margen (€/kg PV cordero vendido)	2.14	2.07	1.81	1.25	-	-

NS P>0.05, \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

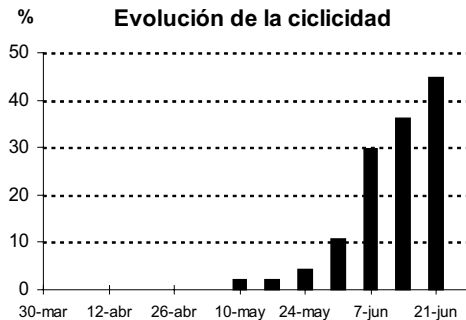
Distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas (P<0.05)

# Rendimiento comercial = peso canal fría / peso vivo sacrificio x 100

**Figura 1.** Evolución de la producción de leche bruta (lsmeans + 2 s.e.).



**Figura 2.** Porcentaje de ovejas cíclicas antes de la subida a puerto (22 junio) (partos del 16 de marzo al 9 de abril), con restablecimiento de la actividad ovulatoria postparto fuera de la estación reproductiva.



## COMPORTAMIENTO EN PASTOREO DE OVEJAS DE LA RAZA CHURRA TENSINA SOMETIDAS A DIFERENTES ALTERNATIVAS DE MANEJO EN PRIMAVERA

J. Alvarez, E. Balmisse, R. Delfa, M. Joy, A. Sanz  
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Apdo. 727. 50080 Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La raza ovina Churra Tensina está constituida por un reducido número de efectivos (menos de 7000) asentados de forma localizada en el Pirineo Oscense. Aunque hasta hace pocas décadas se ordeñaba, hoy se cría únicamente por su producción cárnica. Es una raza resistente apreciada por su capacidad de soportar condiciones climáticas adversas, que le permite alargar el pastoreo en los puertos de montaña hasta finales de octubre.

En la presente comunicación se estudia su comportamiento en pastoreo de praderas de fondo de valle en distintas estrategias de manejo del rebaño durante la primavera, coincidiendo con la época de partos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 36 ovejas con parto simple de corderos machos, pertenecientes al rebaño de la finca experimental "La Garcipollera", en el Pirineo Oscense (945 m). Tras el parto (fecha media: 27 de marzo de 2004), se distribuyeron las ovejas en 3 lotes (n=12), siguiendo un diseño factorial en bloques completos al azar, que pastaron praderas polifitas naturales (0,5 ha/lote) desde el 30 de marzo hasta el 21 de junio. Los tratamientos estudiados fueron: (1) *Extensivo* (EXT): Las ovejas y los corderos estuvieron permanentemente en la pradera. Las madres se alimentaron únicamente de pasto y las crías de leche materna y de pasto hasta su sacrificio. (2) *Extensivo con suplemento para el cordero* (EXT-S): Las ovejas y los corderos estuvieron también permanentemente en la pradera, como el lote EXT. Las ovejas se alimentaron únicamente de pasto. Los corderos dispusieron de leche materna, pasto y pienso comercial *ad libitum* hasta su sacrificio. (3) *Intensivo* (INT): Las madres salieron a pastar durante el día (8-16,30 h) y los corderos permanecieron en el aprisco con pienso comercial *ad libitum* (destete a 45 d). Al volver de la pradera, se suministró a cada oveja 0,5 kg/d de harina de cebada (120 g PB/kg MS) y paja de cebada *ad libitum*.

Se realizaron 6 controles de comportamiento en los lotes EXT y EXT-S (3<sup>a</sup>-8<sup>a</sup> semana de lactación) y 5 controles en INT (3<sup>a</sup>-7<sup>a</sup> semana). Se registró de forma visual la actividad de las ovejas (pastoreo, reposo de pie, reposo tumbadas) cada 15 min durante las horas de luz en EXT y EXT-S y desde las 8 a las 16,30 h en INT. La frecuencia de bocados se controló visualmente en los periodos entre dos registros consecutivos de actividad contando el número de bocados efectuados por una oveja durante dos minutos. Sólo se tuvieron en cuenta los registros en que la duración del pastoreo efectivo superó el 50% del tiempo de registro total. Se obtuvieron entre 9 y 22 registros por día en el lote INT (n=83) y entre 16 y 44 registros por día en EXT (n=187) y EXT-S (n=155), distribuidos homogéneamente a lo largo de la jornada. La altura de la hierba (HFRO sward stick) se controló el día previo a los registros de comportamiento. Se tomaron tres muestras de hierba en cada pradera a lo largo de la experiencia para determinar su composición química.

El análisis estadístico de la duración del pastoreo y del reposo se realizó mediante el procedimiento GLM de SAS (1999), mientras que la frecuencia y el número de bocados se analizaron con el procedimiento MIXED de SAS (1999).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La altura media de la hierba en el lote INT fue significativamente superior ( $P < 0,001$ ) a la de EXT y EXT-S durante las semanas de realización de los controles (Figura 1), debido a la menor carga ganadera impuesta sobre la pradera. Los



parámetros de calidad de las praderas no difirieron entre lotes durante este período ( $169\pm 5,3$  g MS/kg;  $885\pm 3,0$  MO,  $475\pm 22,2$  FND,  $232\pm 10,8$  PB, g/kg MS;  $P>0,05$ ).

En la Tabla 1 se muestran los componentes del comportamiento ingestivo de las ovejas. Se observó que la duración del pastoreo fue diferente entre tratamientos ( $P<0,001$ ), pero estas diferencias únicamente fueron significativas entre INT y el resto de lotes, a consecuencia de la limitación de permanencia en la pradera del primero. En términos relativos, todos los lotes ocuparon porcentajes de tiempo semejantes a dicha actividad (55, 50 y 51% de la duración total del control, en EXT, EXT-S e INT, respectivamente). Esto sugiere que el animal no puede dedicar toda la jornada al pastoreo, debiendo alternar estos períodos con otros de descanso y/o de rumia. El reposo diurno de pie fue menos frecuente en los tratamientos EXT e INT que en EXT-S ( $P<0,05$ ), mientras que el tiempo que permanecieron tumbadas en la pradera durante los controles fue semejante en los lotes en pastoreo continuo (EXT y EXT-S) ( $P>0,05$ ), pero significativamente menor en INT ( $P<0,01$ ). Las diferencias en el tiempo dedicado al reposo diurno en los diferentes controles realizados ( $P<0,01$ ) cabría atribuir las, por un lado, a la variación paralela de la duración del pastoreo al avanzar la estación ( $P<0,01$ ), que guardaría, a su vez, una relación directa con el aumento del fotoperíodo (Milne, 1990), y, por otro, a la acción desfavorable de ciertas variables ambientales como la lluvia en algunos días, que tienen un efecto depresivo sobre el pastoreo (Leclerc y Lecrivain, 1979).

La frecuencia de bocados fue marcadamente diferente entre tratamientos ( $P<0,001$ ), mostrando una gradación ascendente conforme aumentó el grado de extensificación del lote. Las diferencias podrían deberse a una interacción entre el efecto del tratamiento y la altura de la hierba, que explicaría la menor frecuencia de bocados observada en el lote INT. Se ha descrito un efecto negativo sobre la ingestión al limitar la permanencia de las ovejas en la pradera, aumentando la frecuencia de bocados de estos animales durante el tiempo de pastoreo (Iason *et al.*, 1999). Sin embargo, dicha respuesta se modifica al aumentar la altura de la hierba ( $>10$  cm), puesto que se produce un incremento paralelo del tamaño de los bocados (Petit y Béchet, 1995), que conlleva una reducción de la frecuencia de éstos, debido a la mayor necesidad de masticación, sin que ello deprima la ingestión global (Gibb y Orr, 1997).

El mayor número de bocados por minuto observado en el tratamiento EXT ( $P<0,05$ ) podría ser una estrategia para aumentar el ritmo de paso de los nutrientes y permitir a las ovejas compensar el limitado volumen ruminal de los pequeños rumiantes (Prache *et al.*, 1998), como respuesta a las mayores necesidades energéticas teóricas para la cría del cordero en este lote.

Las diferencias observadas en el número de bocados diarios entre los tratamientos en pastoreo continuo ( $P<0,001$ ) estarían igualmente relacionadas con las variaciones en la altura de la hierba, ya que la ingestión de pasto estimada según la teoría mecanicista (Allden y Whittaker, 1970) y con el tamaño de bocado de Penning *et al.* (1991), que introduce la altura de la hierba como variable independiente, es estadísticamente igual en todos los lotes ( $1518\pm 94$ ,  $1459\pm 94$ ,  $1148\pm 108$  g MS/d, en EXT, EXT-S e INT, respectivamente;  $P>0,05$ ). Esta misma razón habría afectado al porcentaje de variabilidad explicada por el efecto individual de cada animal en la frecuencia de bocados (18,7%).

Comparando la media de los resultados de las ovejas en pastoreo continuo (EXT y EXT-S) con los obtenidos en el mismo rebaño durante el pastoreo de verano en los puertos (Blanch *et al.*, 1995), se observó que la duración del pastoreo fue similar en ambas zonas ( $7,7\pm 0,8$  vs  $8,0\pm 0,5$  h, en puerto y praderas, respectivamente) pero la frecuencia de bocados fue mayor durante la primavera ( $40,7\pm 4,25$  vs  $57,5\pm 1,41$  bocados/min). Esto se debería al efecto del estado fisiológico sobre el anterior componente, dado que en puerto la mayoría de las ovejas están vacías, y a un comportamiento selectivo menor durante la actividad de pastoreo en las praderas.

El efecto de la hora del día afectó significativamente el ritmo de ingestión ( $P<0,001$ ), observándose los mayores valores por la tarde (a partir de las 14 h) en los tres tratamientos. Considerando únicamente los lotes en pastoreo continuo (EXT y EXT-S), las diferencias en la frecuencia de bocados asociadas al momento del día

siguieron el mismo patrón (59 vs 49 bocados/min por la mañana y 63 vs 56 bocados/min por la tarde, para EXT y EXT-S, respectivamente;  $P < 0,001$ ).

Las pautas de pastoreo diario siguieron una evolución similar en los tratamientos en pastoreo continuo, observándose un pico muy prolongado de pastoreo al atardecer (entre 45 y 48 min de pastoreo/h entre las 19 y las 21 h), similar a lo observado por Leclerc y Lecrivain (1979). En el lote INT, en cambio, el período de pastoreo más acusado se dio por la mañana (51 min/h entre las 9 y las 10 h) y fue seguido por otro más variable al mediodía (37 min de pastoreo/h entre las 12 y las 13 h).

Del presente trabajo se desprende que las ovejas son capaces de regular la ingestión voluntaria a corto plazo aumentando la frecuencia de bocados para compensar las mayores necesidades de cría del cordero sin que se produzcan repercusiones negativas sobre sus resultados productivos (Sanz *et al.*, 2005).

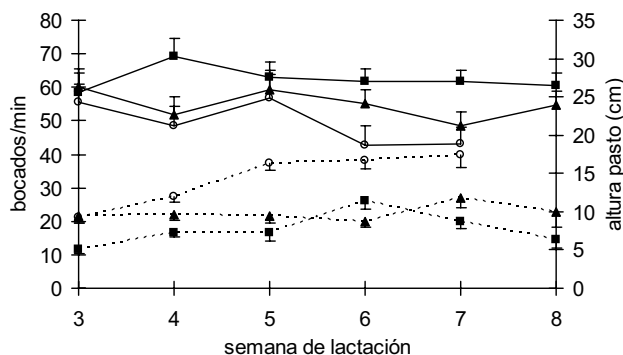


Figura 1. Evolución de la frecuencia de bocados (bocados/min; —) y de la altura del pasto (cm; ---) en los tratamientos EXT (■), EXT-S (▲) e INT (○) durante los controles de comportamiento (media cuadrática + 2 \* s.e.).

Tabla 1. Variables de comportamiento controladas en ovejas Churra Tensina con acceso a pastoreo de praderas durante 8 h/d (INT) y 24 h/d (EXT y EXT-S) en primavera.

	Tratamiento			s.e.	Significación †		
	EXT	EXT-S	INT		T	S	TxS
Duración del pastoreo (min/d)	496 <sup>b</sup>	460 <sup>b</sup>	256 <sup>a</sup>	25,7	***	**	.
Frecuencia de bocados (bocados/min)	62 <sup>c</sup>	53 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>	1,5	***	NS	NS
Número de bocados (bocados/d)	31151 <sup>c</sup>	25506 <sup>b</sup>	11988 <sup>a</sup>	350,9	***	***	***
Reposo de pie (min/d)	130 <sup>a</sup>	200 <sup>b</sup>	124 <sup>a</sup>	26,5	*	**	.
Reposo tumbadas (min/d)	248 <sup>b</sup>	221 <sup>b</sup>	131 <sup>a</sup>	20,5	**	**	.

† Distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

T x S = Interacción entre tratamiento y semana determinada únicamente en las variables frecuencia y número de bocados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allden, W.G.; Whittaker, A.M. 1970. *Aust. J. Agr. Res.*, 21: 755-766.  
 Blanch, M.; Villalba, D.; Casasús, I.; Bergua, A.; Revilla, R. 1995. *ITEA*, vol. Extra 16: 177-179.  
 Gibb, M.; Orr, R. 1997. *IGER Innovations*, pp. 53-57.  
 Iason, G.R.; Mantecón, A.R.; Sim, D.A.; González, J.S.; Foreman, E.; Bermúdez, F.F.; Elston, D.A. 1999. *J. Anim. Ecol.*, 68: 87-93.  
 Leclerc, B.; Lecrivain, E. 1979. *These. Université de Rennes I*. 344 pp.  
 Milne, J.A. 1990. *MLURI Annual Report*, pp. 19-23.  
 Penning, P.D.; Parsons, A.J.; Orr, R.J.; Treacher, T.T. 1991. *Grass Forage Sci.*, 46: 15-28.  
 Petit, M.; Béchet, G. 1995. *Ann. Zootech.*, 44, Suppl.: 250.  
 Prache, S.; Gordon, I.J.; Rook, A.J. 1998. *Ann. Zootech.*, 47: 335-345.  
 Sanz, A.; Alvarez, J.; Balmisse, E.; Delfa, R.; Revilla, R.; Joy, M. 2005. *ITEA*, vol. Extra 26.  
 SAS Institute Inc. 1999. *Procedure User's guide. Versión 8. OnlineDoc™*.

## **EFFECTO DEL DESTETE PRECOZ SOBRE LOS RENDIMIENTOS TÉCNICO – ECONÓMICOS DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE TERNEROS EN CONDICIONES DE MONTAÑA**

Blanco, M., Sanz, A., Bernués, A., Revilla, R., Casasús, I.

Unidad de Tecnología en Producción Animal.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Apdo 727. 50080 Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

El manejo de los rebaños de ganado vacuno en las zonas de montaña está condicionado por la estacionalidad de los recursos pastables. Una manera de optimizar el aprovechamiento de estos recursos por parte del rebaño podría ser el destete precoz de los terneros. La lactación limita las posibilidades de recuperación de las reservas corporales de las vacas en pastoreo (Casasús *et al.*, 2002), por lo que la salida de las vacas al pasto sin ternero podría mejorar sus rendimientos productivos. Existen discrepancias acerca de la repercusión del destete precoz sobre el crecimiento de los terneros y sobre su eficiencia biológica y económica.

El objetivo de este trabajo fue evaluar en condiciones de montaña las consecuencias de un destete precoz de los terneros sobre los parámetros productivos y económicos del rebaño.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 15 vacas de raza Parda de Montaña y sus terneros machos nacidos en primavera. Los animales permanecieron estabulados durante los primeros 90 días de la lactación. El día 90 se destetaron los terneros del primer lote (D90, n=7), que pasaron a cebo intensivo. Sus madres y las vacas y terneros del segundo lote (D180, n=8) pastaron en verano en puertos de montaña. A la bajada de puerto (día 180), se destetaron los terneros del lote D180 y pasaron a cebo intensivo. Todas las vacas pastaron en otoño en áreas boscosas (hasta el día 270).

Durante los primeros 90 días de lactación los animales se mantuvieron en estabulación libre y se alimentaron en lote. Las vacas recibieron una dieta comercial completa calculada para cubrir sus necesidades de mantenimiento y producción de leche (11.5 kg MS/d, 9.14 MJ EM/kg MS, 12.49% PB). En estos primeros 90 días de lactación, los terneros del lote D90 recibieron concentrado de iniciación (11.35 MJ EM/kg MS, 14.5% PB) a voluntad, mientras que los del lote D180 se alimentaron sólo de la leche materna. En el establo, los terneros permanecieron separados de sus madres, permitiéndoles tetar dos veces al día. Tras el destete, todos los terneros se cebaron con paja y concentrado a voluntad hasta la edad de un año. Se utilizaron piensos de crecimiento (11.7 MJ EM/kg MS, 16% PB), cebo (11.9 MJ EM/kg MS, 15% PB) y finalización (12.3 MJ EM/kg MS, 15% PB).

Semanalmente se registraron los pesos de vacas y terneros, a partir de los cuales se estimó la ganancia media diaria (GMD) por regresión. La condición corporal (CC) de las vacas se anotó al parto, día 90 y 180 (escala de 1 a 5, Lowman *et al.*, 1976). La producción lechera se determinó los días 45, 90 y 180 (este último sólo en el lote D180) mediante la técnica propuesta por Le Du *et al.* (1979). Se registró diariamente la ingestión de alimentos de vacas y terneros por lote.

La comparación económica del destete precoz y el tradicional se llevó a cabo mediante un Análisis de Presupuestos Parciales (APP), consistente en comparar los beneficios generados en una alternativa con los costes de oportunidad al no seguir otras alternativas (Turner y Taylor, 1998), considerando sólo los capítulos financieros

que cambian en cada alternativa. Los aspectos técnicos y económicos contemplados en el APP fueron: peso, conformación de la canal (Blanco *et al.*, 2005) y precio del ternero al sacrificio, duración del cebo y coste de utilización del cebadero, consumo y precio del pienso de iniciación y cebo de los terneros.

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (proc GLM) (SAS v. 8.02, SAS Inst. Inc., Cary, NC, EE.UU.), considerando el lote como efecto fijo. Se presentan las medias mínimo-cuadráticas y el error estándar de la diferencia (e.e.d.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rendimientos productivos de las vacas vienen detallados en la Tabla 1. Desde el parto al día 90 no aparecieron diferencias en los rendimientos de las vacas. Sin embargo, desde este momento hasta el día 180, las vacas ya secas (lote D90) tuvieron una GMD superior a las lactantes (lote D180) ( $p < 0.05$ ), y tendieron a presentar una mejor CC ( $p = 0.07$ ) y mayor peso el día 180 (NS). La desaparición de las necesidades de lactación, que todavía suponen un 32% de las necesidades totales en las vacas D180 a la bajada de puerto, permite a las vacas destetadas precozmente destinar más nutrientes a la recuperación de peso y CC. Esta diferencia de peso a día 180 se mantuvo tras el pastoreo de otoño (d 270, NS). Si las vacas no recuperan esta diferencia en la invernada previa al parto, sus rendimientos reproductivos en el siguiente ciclo podrían verse perjudicados (Sanz *et al.*, 2004) y tener repercusiones a un plazo más largo del analizado en este trabajo. El destete precoz parece por ello recomendable en vacas primíparas o con baja condición corporal a la salida al pasto en primavera.

Al igual que las vacas, los terneros no presentaron diferencias en los rendimientos productivos hasta el día 90 (Tabla 2). Desde el día 90 al 180, los terneros destetados precozmente (lote D90) presentaron una mayor GMD ( $p < 0.001$ ). Sin embargo, tras el día 180 hubo un crecimiento compensador en los terneros D180, que evidenció una diferente pauta de crecimiento y condujo a una compensación del peso vivo al sacrificio (511 vs. 489 kg, NS) a la misma edad (362 d). El consumo diario de concentrado a partir del día 180 fue similar (7.12 vs. 6.72 kg MS/d para los terneros D90 y D180), pero el índice de conversión fue mejor en los terneros D180 (5.77 vs. 3.78,  $p < 0.001$ ). Por el contrario, Myers *et al.* (1999) encontraron que los terneros destetados precozmente tuvieron menores ingestiones y mejor índice de conversión. El consumo total de concentrado en el ciclo de producción fue mayor en los terneros D90 (2054 vs. 1265 kg), así como la duración de la fase de cebo intensivo (264 vs. 158 d,  $p < 0.001$ ).

En términos económicos, el destete tradicional tuvo mejores resultados que el destete precoz (Tabla 3). Los terneros destetados precozmente tendieron a producir canales más pesadas (290 vs. 270 kg,  $p = 0.07$ ) por lo que originaron mayores ingresos. No obstante, los costes de la alimentación fueron superiores, por lo que el margen (diferencia entre los ingresos obtenidos y los costes del cebo) fue un 23% inferior. En cambio, Story *et al.* (2000) encontraron que ambos manejos producían un beneficio neto similar. En estas condiciones, el destete precoz no resultó ventajoso económicamente frente al destete tradicional, aunque se apreció una lógica mejora en la condición de las vacas destetadas precozmente, circunstancia que favorecería un adecuado rendimiento en el siguiente ciclo reproductivo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco *et al.* (2005). XI Jornadas de Producción Animal de AIDA.  
Casasús *et al.* (2002). J. Anim. Sci. 80: 1638-1651.

Le Du *et al.* (1979). *J. Agric. Sci.* 92: 457-469.  
 Lowman *et al.* (1976). *East of Scotland College of Agriculture, Bulletin* nº 6: 1-31.  
 Myers *et al.* (1999). *J. Anim. Sci.* 77: 300-310.  
 Turner y Taylor (1998). *Applied Farm Management*. Blackwell Science, Oxford.  
 Sanz *et al.* (2004). *Livest. Prod. Sci.* 86: 179-191.  
 Story *et al.* (2000) *J. Anim. Sci.* 78: 1403-1413.

**Tabla 1.** Características productivas de las vacas

Lote	D90	D180	e.e.d.	Efecto
Peso (kg)				
parto (d=0)	559	558	36	NS
d 90	558	564	30	NS
d 180	560	534	26	NS
d 270	545	512	25	NS
CC				
parto	2.57	2.57	0.06	NS
d 90	2.55	2.55	0.05	NS
d 180	2.63	2.47	0.08	0.07
GMD (kg)				
d 0-90	-0.051	-0.020	0.23	NS
d 90-180	0.024	-0.289	0.16	**
d 180-270	-0.107	-0.262	0.23	NS
Producción de leche (kg/d)				
45 d	9.89	10.43	1.77	NS
90 d	9.36	8.90	1.53	NS
180 d	-	4.91		

NS : no significativo; \* :  $p < 0,05$  ; \*\* :  $p < 0,05$  ; \*\*\* :  $p < 0,001$

**Tabla 2.** Pesos y GMD de los terneros

Lote	D90	D180	e.e.d.	Efecto
Peso (kg)				
nacimiento (d=0)	44	46	4	NS
d 90	129	132	15	NS
d 180	302	214	17	***
sacrificio	503	479	17	NS
GMD (kg)				
d 0-90	0.929	0.897	0.07	NS
d 90-180	1.549	0.783	0.07	***
d 180-sacrificio	1.245	1.789	0.09	***

**Tabla 3.** Análisis de presupuestos parciales (€ / ternero)

Lote	D90	D180
Costes del cebo		
Coste de alimentación ternero (A)	389	238
Coste de utilización del cebadero (B)	54	30
Ingresos (C)	966	910
Margen (C-A-B)	523	642

**Agradecimientos:** al personal de la Finca Experimental La Garcipollera y de la Sociedad Cooperativa Limitada Agropecuaria del Sobrarbe, por su colaboración técnica. Financiación procedente de Gobierno de Aragón (Ayudas a la Transferencia de Tecnología Agraria), INTERREG IIIA y MCyT (proyecto AGL 2002-00027).

## **CEBO DE TERNEROS EN PRADERAS DE ALFALFA: EFECTO DE DISTINTAS ALTERNATIVAS DE MANEJO SOBRE LOS RENDIMIENTOS.**

M. Blanco, I. Casasús, I. Delgado, P. Albertí, M. Joy

Unidad de Tecnología en Producción Animal.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Apdo. 727, 50080 Zaragoza

### **INTRODUCCIÓN**

La producción de carne de calidad diferenciada es un objetivo primordial en las áreas que ven reducida su competitividad en los mercados convencionales por distintas circunstancias. En este contexto, los sistemas extensivos de producción de carne de vacuno, con una mayor incorporación de forrajes o pastos en las dietas de cebo, suponen una alternativa a tener en cuenta, aunque queda por determinar la repercusión de este tipo de alimentación sobre los rendimientos productivos y económicos y la calidad de los productos.

La alfalfa es uno de los cultivos más característicos de los regadíos del Valle del Ebro y ofrece grandes posibilidades para el pastoreo del vacuno desde mediados de marzo hasta el otoño (Urbiet y Delgado, 1987).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los rendimientos técnicos y económicos de terneros de raza Parda de Montaña sometidos a tres manejos diferentes: cebo convencional, pastoreo en praderas de alfalfa (con suplementación) y pastoreo en alfalfa con un acabado a pienso de dos meses. En otro trabajo (Blanco *et al.*, 2005) se presentan los efectos de dichos manejos sobre la calidad del producto.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 21 terneros de raza Parda de Montaña, de igual edad y peso al inicio del ensayo (media 229 kg, 6 meses de edad). Tras el destete, los animales se repartieron al azar en tres lotes, que recibieron distinto manejo durante todo el periodo de cebo. El lote INT fue sometido a un cebo intensivo convencional en establo, a base de pienso comercial de crecimiento (1.03 UFC/kg, 15% PB) y cebo (1.04 UFC/kg, 14% PB) y paja a voluntad. Un segundo lote se mantuvo hasta el sacrificio en praderas de alfalfa, recibiendo diariamente una suplementación de 2 kg de cebada por cabeza (lote ALF). El último lote permaneció en pastoreo en las mismas condiciones, pero tuvo una fase de acabado en establo de 60 días, en la que los animales recibieron pienso comercial y paja a voluntad (lote ALF+ACB). Todos los animales tuvieron libre acceso a agua y complemento vitamínico-mineral. Los animales se sacrificaron al alcanzar el peso objetivo de 450 kg (categoría añojo), en un matadero comercial.

La pradera de alfalfa cv 'Aragón' se sembró a una dosis de 25 kg/ha en la primavera del año previo al pastoreo. Como abonado de fondo se aportaron 400 kg ha<sup>-1</sup> de 15:15:15 (NPK), cantidad que se repitió en cobertera durante el año del ensayo. Se utilizaron dos parcelas de 0.97 y 0.79 ha de superficie que se dividieron cada una de ellas en tres subparcelas. El pastoreo fue rotacional y se inició el 26 de abril, cuando la alfalfa había iniciado ya su crecimiento, y se finalizó cuando todos los animales alcanzaron el peso de sacrificio. La producción de alfalfa y el rehusado se determinaron mediante la siega de 20 cuadros de 0.25 m<sup>2</sup> por subparcela antes y después del pastoreo del ganado. La alfalfa se desecó en una estufa de ventilación forzada a 60 °C hasta peso constante.

Los terneros se pesaron semanalmente, estimándose la ganancia media diaria por regresión. En el ensayo se consideraron 2 fases (coincidentes con el manejo del

lote ALF+ACB): desde el inicio a 60 días del sacrificio (fase 1) y los últimos 60 días antes del sacrificio (fase 2). La ingestión de alfalfa se estimó a partir de la relación oferta-rehusado, antes y después del pastoreo. Se registraron diariamente los consumos de pienso del lote INT y del lote ALF+ACB (durante la finalización) y el consumo de cebada de los lotes ALF y ALF+ACB en pastoreo.

La valoración económica se hizo a partir del gasto medio de una pradera de alfalfa (gastos de laboreo y de productos), del precio de los alimentos consumidos y del precio de la canal establecido por la Lonja Agropecuaria del Ebro semanalmente para las categorías de peso y conformación correspondientes (Blanco *et al.*, 2005).

Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (proc GLM) (SAS v. 8.02, SAS Inst. Inc., Cary, NC, EE.UU.), considerando el lote como efecto fijo para evaluar el efecto del manejo sobre los rendimientos de los animales. Se presentan las medias mínimo-cuadráticas y el error standard de la diferencia (e.s.d.).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pesos y ganancias medias diarias (GMD) de los terneros están detallados en la Tabla 1. Desde el inicio de la experiencia hasta los últimos 60 días, los terneros del lote INT tendieron ( $P<0.1$ ) a tener una ganancia media diaria superior a los terneros en pastoreo (lotes ALF y ALF+ACB). En los últimos 60 días, los terneros del lote ALF+ACB pasaron del pastoreo al acabado y mostraron una ganancia de peso significativamente superior ( $P<0.001$ ) a la de los terneros del lote INT y del lote ALF, que fueron similares entre sí. La GMD durante la segunda fase de los terneros del lote ALF+ACB se incrementó en un 40% con respecto a la registrada en la fase 1, lo que está de acuerdo con Albertí *et al.* (1987) que encontraron un incremento del 30% en terneros de raza frisona. La GMD global de los terneros de dicho tratamiento fue significativamente ( $P<0.01$ ) superior a la ganancia registrada en el lote ALF, y similar ( $P>0.05$ ) a la del lote INT. El lote INT presentó una GMD inferior a la observada por Albertí *et al.* (1997) en terneros de esta misma raza en condiciones análogas. Por otro lado, el lote ALF presentó una ganancia de peso superior a la encontrada por Albertí y Muñoz (1986) en terneros Pardos en pastoreo de praderas polifitas con suplementación de 2 kg de pienso/ternero y similar cuando la suplementación fue de 4 kg de pienso por ternero.

La ingestión de pienso en los últimos 60 días de los terneros del lote INT fue inferior a la de los terneros del lote ALF+ACB (Tabla 2) y a la encontrada por Albertí *et al.* (1997) en terneros Pardos en cebo intensivo, sin embargo, el índice de conversión de los terneros del lote INT fue igual al observado por Albertí *et al.* (1997). La ingestión de alfalfa en pastoreo fue similar a la encontrada por Albertí *et al.* (1987) en terneros frisonos pastando una pradera polifita. Sin embargo hay que anotar que la estimación de la ingestión se realizó a partir de la producción y rehusado de materia seca antes y después del pastoreo, lo que proporciona unos valores muy aproximados debido a su gran variabilidad.

Albertí (1995) estima que el coste de alimentación por kg de peso ganado puede reducirse en un 15% con la dieta forrajera frente a la de pienso. En el presente estudio, el coste de la alimentación por kg de canal vendido fue inferior en un 59% para los terneros del lote ALF y un 12% para los ALF+ACB comparados con los del lote INT (Tabla 3). Los ingresos obtenidos por la venta de las canales no fueron significativamente diferentes, por su similar peso y conformación.

La ausencia de grandes diferencias en los rendimientos técnicos, y la producción de canales adaptadas a las exigencias del mercado (Blanco *et al.*, 2005), permite indicar la oportunidad del cebo en praderas de cara a una “diferenciación”,

tanto por el sistema productivo como por la calidad final del producto, aspectos ambos que forman parte del concepto de “calidad” percibido por los consumidores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí (1995). BOVIS: 13-27.  
 Albertí y Muñoz (1986). ITEA nº 66: 35-42.  
 Albertí *et al.* (1987). ITEA nº 70: 48-58.  
 Albertí *et al.* (1997). ITEA Volumen extra nº18: 745-747.  
 Blanco *et al.* (2005). XI Jornadas AIDA de Producción Animal.  
 Urbietta y Delgado (1987). Información Técnica 2. Diputación General de Aragón.

**Tabla 1.** Rendimientos productivos de los terneros Parda de Montaña

lote	INT	ALF	ALF+ACB	e.s.d.	Efecto
n	7	7	7		
Peso inicial (kg)	245	225	225	21.4	NS
Peso sacrificio (kg)	455	444	458	16.3	NS
Duración del cebo (d)	138 <sup>b</sup>	149 <sup>ab</sup>	164 <sup>a</sup>	11	*
Duración acabado (d)	-	-	57		
GMD (kg)					
Fase 1	1.538	1.345	1.330	0.123	0.1
Fase 2	1.476 <sup>b</sup>	1.409 <sup>b</sup>	2.017 <sup>a</sup>	0.131	***
Global	1.505 <sup>ab</sup>	1.359 <sup>b</sup>	1.576 <sup>a</sup>	0.079	**

NS= p>0.05; \* =p<0.05; \*\* = p<0.01; \*\*\* = p<0.001; a ≠b: P<0.05.  
 Fase 1: inicio a 60 días del sacrificio; Fase 2: últimos 60 días

**Tabla 2.** Ingestión diaria de alfalfa y pienso por ternero.

Lote	INT	ALF	ALF+ACB
Dieta			
Fase 1	Pienso + paja	Alfalfa + cebada	Alfalfa + cebada
Fase 2	Pienso + paja	Alfalfa + cebada	Pienso + paja
Ingestión			
Alfalfa (kg MS/d)			
Fase 1	-	4.22	4.22
Fase 2	-	5.43	-
Pienso (kg MF/d)			
Fase 1	5.80	1.99	1.99
Fase 2	6.99	2.00	9.11
Índice de Conversión (kg/kg)			
Fase 1	3.79	-	-
Fase 2	4.80	-	4.61
Global	4.20	-	-

**Tabla 3.** Datos económicos por kg de canal vendido

Lote	INT	ALF	ALF+ACB
Coste alimento / kg canal (€)	0.75	0.31	0.66
Ingresos / kg canal (€)	3.18	3.22	3.13

Agradecimientos: al personal laboral del CITA, por su colaboración técnica. Financiación procedente de INIA (proyecto RTA 03-031) y MCYT (proyecto AGL 2002-00027).



## **APLICACIÓN DE UN MODELO DE SIMULACIÓN DE CRECIMIENTO AL CEBO DE TERNEROS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA: RESULTADOS PRELIMINARES**

Bernués A.<sup>1</sup>, Ripoll G.<sup>1</sup>, Ruiz R.<sup>2</sup>, Casasús I.<sup>1</sup>, Villalba D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Apdo.727, 50080, Zaragoza abernues@aragon.es

<sup>2</sup> NEIKER, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz.

<sup>3</sup> Universitat de Lleida, Rovira Roure 177, 25198, Lleida.

### **INTRODUCCIÓN**

Los modelos de simulación en producción animal son útiles a la hora de diseñar estrategias de manejo técnico-económico, puesto que permiten el estudio de multitud de escenarios y periodos de tiempo variables sin necesidad de implementarlos en la realidad, evitando el consumo de recursos económicos, humanos y pudiendo lograr resultados en poco tiempo.

Los sistemas convencionales de cebo de terneros están en estos momentos atravesando una crisis económica debida fundamentalmente al bajo precio de la carne. Además, estos sistemas pueden dejar de percibir ayudas tras la reforma de la PAC debido al criterio de “condicionalidad”, que puede exigir que las explotaciones de cebo hagan un uso efectivo y real de la tierra mediante pastoreo.

Como primer paso hacia la simulación de sistemas alternativos de cebo de terneros, este trabajo tiene por objetivo adaptar un modelo de simulación de crecimiento en ganado vacuno de carne y validarlo con datos reales de terneros de raza Parda de Montaña en sistemas de cebo habituales en Aragón.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El modelo tomado como base fue elaborado por Hoch y Agabriel (2004a, b) Se trata de un modelo mecanístico que considera la evolución de cuatro variables de estado, proteína y lípidos en los tejidos de la canal y en el quinto cuarto, y que se adapta a gran variedad de situaciones nutricionales. El modelo predice la composición del cuerpo del animal en crecimiento continuo o discontinuo.

Para la adaptación del modelo original se partió de los datos obtenidos de 20 terneros de raza Parda de Montaña cebados en las condiciones descritas por Casasús et al. (2001). Los terneros se dividieron en 4 lotes en función de dos niveles de alimentación de las vacas nodrizas durante la lactación (Alto y Bajo) y de si se suministró concentrado de iniciación a los terneros hasta el destete (Con y Sin). Los animales se destetaron a los 150 días de edad y permanecieron en cebadero alimentándose con concentrado comercial y paja *ad libitum* durante un periodo de entre 170 y 212 días, sacrificándose a medida que llegaban a un peso fijo de 525 kg. El consumo diario de alimento se controló de forma individual y se realizaron pesadas semanales.

El modelo se desarrolló con el programa de simulación Stella v.8, e incluye 26 parámetros para la estimación del peso vivo lleno, la composición corporal y el rendimiento de la canal caliente. Los cálculos se ejecutan en intervalos de tiempo de un día. Los parámetros que, bien porque son constantes, o poco sensibles y su modificación no altera sustancialmente la simulación, o bien porque se asume que son iguales para distintos tipos de animales, como es el caso de las constantes de síntesis y degradación de lípidos, se conservaron del modelo original. El resto de los parámetros se ajustaron en función del peso vivo lleno final y el rendimiento de la

canal. Una vez ajustado el modelo, este se validó con los datos de crecimiento y rendimiento canal de los cuatro lotes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez adaptado el modelo a la raza Parda de Montaña, el parámetro que difiere en mayor medida del modelo de partida es la tasa de síntesis proteica para la canal ( $\alpha_c$ ), con un valor de 0,0198, mientras que en el original se dan valores de 0,015 y 0,0185 para machos Charolais y Montbeliard, respectivamente. Se trata del parámetro más sensible del modelo y las diferencias vienen dadas por el tipo de animal y, probablemente, también a unas condiciones de cebo más intensivas con menor uso de forrajes, ya que en el modelo solo se tiene en cuenta la energía metabolizable y no la naturaleza de la dieta y su eficiencia (Energía metabolizable/Energía bruta).

En la Figura 1 se muestra la evolución de la composición química corporal durante el crecimiento, donde la parte *no canal* tiene un crecimiento más lento que la parte canal mientras que la deposición de lípidos y proteínas de la canal es mayor haciendo que la ganancia media diaria sea de 1,61 kg/día. La velocidad de deposición de lípidos en el final del periodo de cebo tendió a ser mayor que en el inicio, mientras que la deposición de proteínas en la parte *no canal* se ralentizó.

En la Figura 2 se contrasta la evolución del peso vivo estimada del modelo con cada lote de terneros. En los cuatro lotes se observa como el modelo se ajusta a la curva con un coeficiente de determinación superior en todos los casos al 0,99 y con un error típico máximo entre los valores reales y los estimados de 4,7 kg en el caso del lote Bajo-Sin. En los lotes que no tuvieron concentrado antes del destete, el modelo sobrestima ligeramente el valor del peso vivo, pero tanto en éstos como en los lotes con acceso a concentrado, la variabilidad propia del lote es superior a las diferencias entre los valores medios y los estimados por el modelo. El rendimiento canal estimado por el modelo a lo largo del periodo de cebo es similar al rendimiento medio real (58,5 %) de los terneros del grupo de datos sacrificados a 525 kg, y a los encontrados por Albertí et al. (2001) con pesos de sacrificio de 300 y 550 kg.

Basándose en estos resultados preliminares se puede concluir que el modelo es válido para la simulación del crecimiento en sistemas de cebo intensivo de terneros de Parda de montaña. El modelo reproduce satisfactoriamente la ganancia de peso y evolución del rendimiento canal del ternero medio, aunque difiere según animales, por lo que hay que profundizar en el estudio de la variabilidad individual de algunos parámetros. Este modelo puede facilitar la toma de decisiones en cuanto al momento óptimo del sacrificio en función del peso final, rendimiento canal y composición de la misma. Asimismo, en el futuro se expandirá su uso para evaluar sistemas alternativos de cebo de terneros, incluyendo periodos de pastoreo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí, P., Sañudo, C., Olleta, J. L., Panea, B., Lahoz, F. (2001). Efecto del peso de sacrificio en el rendimiento cárnico de terneros de siete razas bovinas españolas. ITEA vol. Extra, 22(II): 511-513.
- Casasús, I., Bernués, A., Sanz, A., Alzón, M., Eguinoa, P. (2001). Alimentación de la vaca y el ternero durante la lactación y el cebo en sistemas extensivos de montaña: (II) Rendimientos de los terneros en cebo y eficiencia biológica. ITEA vol. Extra, 22(II): 436-438.
- Hoch, T., Agabriel, J. (2004a). A mechanistic dynamic model to estimate beef cattle growth and body composition: 1. Model description. *Agricultural Systems* 81(1): 1-15.
- Hoch, T., Agabriel, J. (2004b). A mechanistic dynamic model to estimate beef cattle growth and body composition: 2. Model evaluation. *Agricultural Systems* 81(1): 17-35.

Figura 1. Evolución de las cuatro variables de estado durante el periodo de cebo.

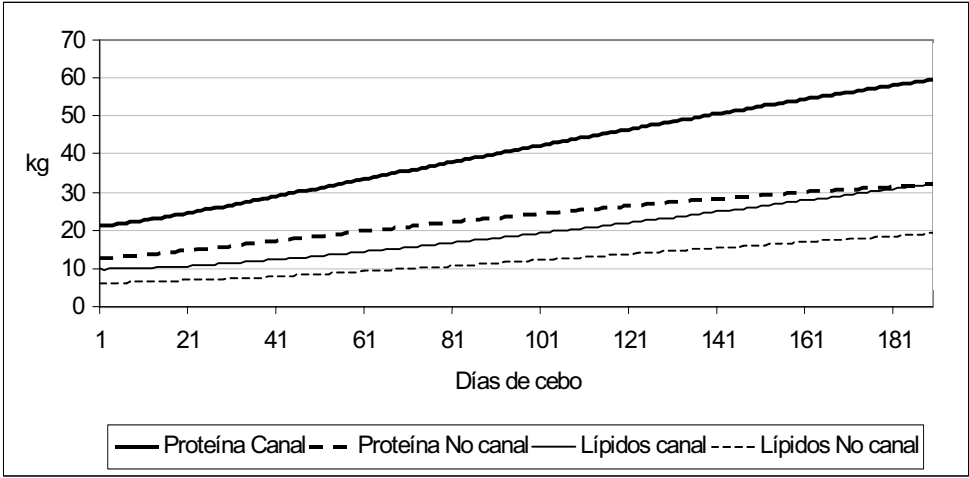
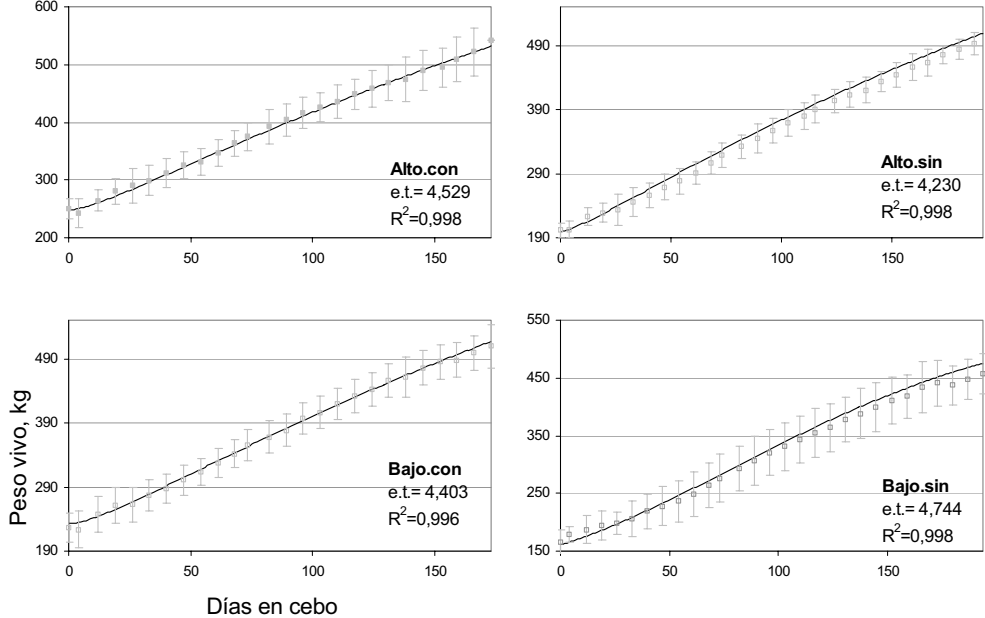


Figura 2. Ganancia de peso del modelo (línea continua) y del ternero medio del lote (línea discontinua).



e.t.= error típico

**Agradecimientos:** Este trabajo se enmarca dentro del proyecto INIA-RTA03-029-C2: “Desarrollo de un Sistema de Apoyo a la Toma de Decisiones para la gestión sostenible de sistemas ganaderos extensivos de rumiantes y la evaluación de políticas en zonas de montaña”. Proyecto cofinanciado por FEDER.

## ESTUDIO DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO DEL GANADO VACUNO EN LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DEL PAÍS VASCO

Igarzabal A., Oregui L.M., Mandaluniz, N., Amenabar M.E., Ruiz R.  
NEIKER A.B., Apdo. 48, 01080 Vitoria-Gasteiz

### INTRODUCCIÓN

El sector de ganado vacuno de carne ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años en el País Vasco y desde las asociaciones de ganaderos se ha expresado la necesidad de contar con un mayor apoyo técnico basado en los datos sistemáticamente recogidos por medio del Control de Rendimientos (CR). En aras de obtener una actividad rentable, la gestión de la explotación debe contemplar los efectos de las interacciones existentes entre nutrición y reproducción (uso de recursos, crecimiento, desarrollo corporal y fisiológico, fertilidad, etc.), obviamente con relación a las características de la explotación. Por ello, se ha considerado oportuno comenzar con un primer trabajo para caracterizar las curvas de crecimiento del ganado vacuno de raza Pirenaica, Blonda y Limousin durante los 3 primeros años de edad bajo las principales condiciones de explotación existente en el País Vasco.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente trabajo se evaluó durante un año y de manera trimestral el peso vivo (PV) de las hembras con una edad inferior a 3 años de un total de 37 explotaciones del País Vasco, recopilándose igualmente los datos de los pesos existentes en el programa de gestión de rendimientos de los animales controlados. Se ha dispuesto de un total de 5612 observaciones correspondientes a 1298 animales: 328 de raza Pirenaica, 537 de Limousin y 364 de Blonda. El conjunto de datos disponible se ha ajustado a los siguientes modelos de crecimiento, los más frecuentemente empleados en la literatura (Blasco 1999; v. de Behr et al., 2001):

Ecuación de Brody	$PV = a \times (1 - be^{-ct})$
Función Logística	$PV = a / (1 + be^{-ct})$
Ecuación de Gompertz	$PV = ae^{-be^{-ct}}$
Ecuación de Von Bertalanffy	$PV = a(1 - be^{-ct})^3$
Función Cuadrática	$PV = a + bt + ct^2$

donde PV es el peso vivo (kg),  $a$ ,  $b$  y  $c$  son los parámetros de la ecuaciones y  $t$  es la edad (días) de los animales. Este ajuste se realizó utilizando una metodología no lineal (Proc. NLIN, SAS, 1990), salvo en el caso de la ecuación cuadrática en la que se empleó un análisis de regresión. Los parámetros empleados para evaluar la bondad de ajuste han sido el valor de F y la desviación estándar de los residuos (d.s.r.). Posteriormente se realizó el ajuste para cada uno de los sistemas de producción identificados entre la muestra de explotaciones objeto de estudio (Ruiz et al., 2005), habiéndose empleando los mismos parámetros de comparación.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se indican los ajustes del peso de las novillas hasta los tres años de edad para los modelos seleccionados de la bibliografía. Teniendo en cuenta los estadísticos considerados para la muestra empleada en el trabajo, el modelo de Brody sería el que mejor describe el crecimiento de las novillas de raza Pirenaica y Blonda, mientras que el de Gompertz lo sería para la raza Limousin. Las dos

primeras se trata de dos razas con un origen similar y presentarían un ritmo de crecimiento exponencial y decreciente a medida que transcurre el tiempo, si bien se diferenciarían en que la Blonda presenta un mayor peso a la madurez. Por su parte el crecimiento de la raza Limousín, partiendo de un peso al nacimiento ligeramente inferior ( $39,6 \pm 3,1$  kg vs  $40,5 \pm 4,5$  kg en Pirenaica y  $45,5 \pm 5,2$  kg en Blonda), se ajustaría mejor a un patrón sigmoïdal con un punto de inflexión en torno a los 150 días de edad.

**Tabla 1.** Valores de los parámetros (*a*, *b*, y *c*) obtenidos del ajuste para los distintos modelos y razas del estudio y criterios de comparación (F,  $R^2$  y desviación estándar residual (d.s.r.))

Modelo	Raza	a	b	c	F	$R^2$	d.s.r
Brody	Pirenaica	656,0	0,9449	0,00207	10724,6		48,3
	Limousín	735,1	0,9654	0,00216	25571,8		54,0
	Blonda	834,9	0,9547	0,00197	15162,0		61,0
Logística	Pirenaica	469,4	7,3629	0,01040	9357,0		
	Limousín	564,5	9,2125	0,00999	30693,5		
	Blonda	808,4	7,7871	0,00962	13394,9		
Gompertz	Pirenaica	507,6	2,3742	0,00596	10306,0		49,2
	Limousín	599,2	2,6775	0,00588	30881,8		49,4
	Blonda	654,3	2,4579	0,00556	14772,9		65,2
Von Bertalanfy	Pirenaica	532,8	0,5667	0,00460	10585,9		48,6
	Limousín	622,3	0,6164	0,00459	29969,0		50,1
	Blonda	684,6	0,5824	0,00431	15159,8		61,0
Cuadrática	Pirenaica	41,5	1,1276	0,000636	5256,4	0,89	
	Limousín	26,5	1,3549	0,000787	14063,9	0,92	
	Blonda	46,0	1,3584	0,000710	7474,8	0,90	

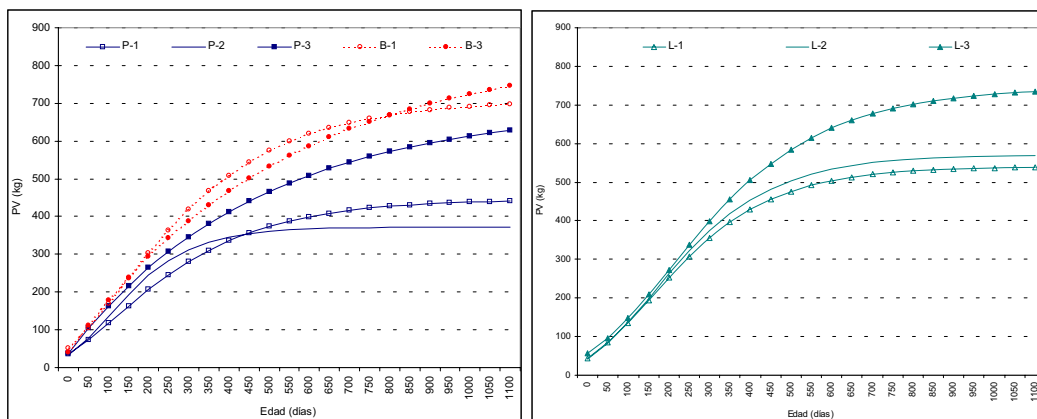
La ecuación de von Bertalanfy también ofrece unos ajustes muy similares a los de los modelos anteriores. A su vez, si bien la ecuación logística resulta en unos valores de F similares a los del resto de los modelos, supone que para todas las razas se alcanzaría un PV máximo alrededor de los 2 años de edad, lo cual no se corresponde con la evolución del PV de las terneras controladas. La ecuación cuadrática, debido a la estructura de los datos disponible, supondría una reducción de PV a partir de los 850-950 días de edad, lo que tampoco se ajusta a la realidad.

A continuación (Tabla 2) se emplearon las ecuaciones con una mejor bondad de ajuste para analizar la evolución del peso de los animales de las diferentes razas de acuerdo al sistema de producción de la explotación de origen (Ruiz et al., 2005).

**Tabla 2.** Ecuaciones de elección para describir el crecimiento de las novillas hasta los 3 años de edad para cada raza y sistema de producción.

Raza	Sistema	Modelo	Ecuación	F	d.s.r.
Pirenaica	1	Von Bertalanfy	$PV=445,9*(1-0,5682*e(-0,0046*t))^3$	2570,8	40,0
	2	Gompertz	$PV=372,1*e(-2,3952*e(-0,00872*t))$	2534,4	40,3
	3	Brody	$PV=692,1*(1-0,9449*e(-0,00212*t))$	9183,0	41,7
Blonda	1	Von Bertalanfy	$PV=708,0*(1-0,5863*e(-0,0043*t))^3$	5847,5	72,0
	3	Brody	$PV=846,6*(1-0,9535*e(-0,001188*t))$	5762,9	46,4
Limousin	1	Gompertz	$PV=540,3*e(-2,5032*e(-0,00596*t))$	3216,5	35,5
	2	Gompertz	$PV=571,0*e(-2,6247*e(-0,00609*t))$	16689,6	44,3
	3	Gompertz	$PV=744,4*e(-2,5861*e(-0,00474*t))$	2920,3	54,1

Se observan menores valores de d.s.r. que cuando solo se considera la raza, así como diferencias no solo entre razas sino también entre sistemas, lo que estaría motivado por unas condiciones de manejo distintas (Doren et al., 1989). Así, el crecimiento de las novillas de Pirenaica y Blonda en el Sistema 1 se representa mejor mediante la ecuación de von Bertalanfy, mientras que para las del Sistema 3 lo haría la ecuación de Brody. En el caso del Limousín, así como del Sistema 2 de Pirenaica, la ecuación de Gompertz sería la que ofrece unos mejores ajustes.



**Figura 1.** Representación gráfica de los patrones de crecimiento de elección para cada raza y sistema de producción. P=Pirenaica; L=Limousín; B= Blonda; 1=Sistema 1; 2=Sistema 2; 3=Sistema 3.

Los animales correspondientes a las explotaciones del Sistema 3 en las distintas razas presentarían un mayor PV en torno a los 3 años de edad, que en el resto de los sistemas, destacando especialmente las diferencias observadas con relación a los sistemas 1 y 2 tanto en Pirenaica como en Limousín, si bien en este caso sólo había 1 rebaño. En el caso de las novillas Pirenaicas del Sistema 2, la realización del destete de la reposición a una edad más temprana junto a la utilización de pastos de monte durante un periodo de tiempo más largo (Ruiz et al, 2005), se relacionaría tanto con unos mayores crecimientos observados durante los primeros meses de vida, como con el menor peso en torno a los 3 años de edad.

En conclusión, en términos generales las razas Pirenaica y Blonda presentarían un patrón de crecimiento más similar entre ambas, y significativamente diferente de la raza Limousin. Además, el hecho de diferenciar las curvas de crecimiento de acuerdo al sistema de producción permite un mejor ajuste y por tanto una mejor descripción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blasco A. 1999. Inf. Técnico Ocasional N6, 21 págs.  
<http://www.dcam.upv.es/dcia/Download/ITO6.PDF>  
 Doren P.E., Baker J.F., Long C.R., Cartwright T.C. 1989. J. Anim. Sci. 67:1432-1445.  
 Ruiz R, Igarzabal A., Mandaluniz N., Amenabar M., Oregui L.M. 2005. ITEA (Vol. Extra  
 SAS User's Guide. 1990. SAS Inst., Inc., Cary, NC: USA.  
 v. de Behr, Hornick J.L., Cabaraux J.F., Alvarez A., Istasse L.. 2001. Livest. Prod. Sci. 71: 121-130

## EFFECTOS DE LA INTENSIFICACIÓN EN VACAS DE PASTO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA LECHE

G. Salcedo<sup>1</sup>; H. Arriaga<sup>2</sup>; A. Del Prado<sup>3</sup>; P. Merino<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Tecnología Agraria del I.E.S. "La Granja", 39792 Heras, Cantabria

<sup>2</sup>Dpto. Agrosistemas y Producción Animal, NEIKER A.B. Berreaga, 1 48160 Derio (Bizkaia)

<sup>3</sup> IGER, North Wyke, Okehampton, Devon, UK. EX20 2SB

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad el sector lechero de la Cornisa Cantábrica camina hacia sistemas más intensivos, basados en la conservación de los forrajes, (principalmente en forma de ensilados) y elevados aportes de concentrados. Estudios previos desarrollados en Asturias (Álvarez y Pérez, 2004), indican un aumento en el consumo de concentrado por litro de leche producido en sistemas de producción.

El objetivo del presente trabajo fue comparar los sistemas de producción extensivo en pastoreo, semi-intensivo e intensivo en relación a la producción y calidad de la leche.

### MATERIALES Y METODOS

#### Manejo de los animales y dietas

Durante sesenta días, 12 vacas Frisonas de la Unidad de Producción Lechera del I.E.S. "La Granja" fueron divididas en tres grupos denominados: intensivo (I), 10 kg; semi-intensivo (S), 5 kg y, pastoreo (P), 4 kg de concentrado respectivamente. El grupo P fue introducido en el experimento como testigo.

Los forrajes utilizados para I y S fueron ensilado de triticale (*xTriticosecale*) *ad libitum* y 2 kg de una mezcla de alfalfa y festuca en forma de heno. El triticale fue recolectado el 6 de marzo al inicio del espigado, previo presecado de 24 horas y picado a una longitud de 1,5 a 3 cm para el primer período y de 10 a 16 cm para el segundo. Fue conservado en la modalidad de macrobolsas y rotopacas para el 1º y 2º períodos respectivamente. En ambos casos no se adicionó conservante. La composición del concentrado del grupo intensivo (10 kg) y semi-intensivo (5 kg) fue una mezcla de pulpa de remolacha (15%); harina de cebada (40%); maíz (15%); harina de soja (14.1%); corn gluten feed (12%); fosfato bicálcico (1.4%); sulfato magnésico (0.8%); carbonato cálcico (1.7%), administrado dos veces al día (8:30 a.m. y 15:30 p.m.). Con los grupos I y S se efectuó un diseño cruzado de dos períodos de 30 días cada uno, 25 como preexperimental y 5 de control.

Las vacas del grupo P pastaron sobre praderas sembradas en base a raigrás inglés y trébol blanco 20 horas diarias durante el primer período. En el segundo período, las vacas pastaban 8 horas diarias, completando la ración forrajera con ensilado de triticale. La composición del concentrado del grupo extensivo fue una mezcla de 82.4% de harina de cebada; 14.1% de harina de soja; 1.14% de fosfato bicálcico, 1.9% de bicarbonato sódico, 0,40% de corrector vitamínico-mineral, administrado una vez al día (8:30 h a.m.) a razón de 4 kg/d.

Las características productivas de las vacas al inicio del ensayo según tratamientos figuran en la Tabla 1.

Tabla 1. Características productivas de las vacas al inicio del experimento

Grupos	Nº parto	Días lactación	Leche (kg)	GB (%)	PB (%)	Peso Vivo (kg)
Intensivo – Semi-intensivo	2.75±1.72	82.3±37,5	26±2.22	3.28±0.59	3.17±0.22	696±39.3
Pastoreo	3.5±2.04	151±78	22.5±4.43	3.67±0.22	3.31±0.048	660±15

### Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza, donde el efecto principal fue la dosis concentrado. Los efectos lineal y cuadrático fueron comparados mediante contrastes ortogonales, separándose las medias con el test LSD del paquete estadístico SAS (1988).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desde el inicio al final del experimento, el descenso de producción láctea fue de 19.76% y 28.8% en I y S, sin variaciones en P; o bien, 0.64 y 0.93 kilos de leche por semana. Dichos porcentajes son superiores al 8 ó 10% mensual en una lactación. La diferencias de producción de S e I respecto a P fue de -4.16 y -1.8 kg/d (Tabla 2). El declive puede ser explicado en parte, por el cambio en el manejo (previamente al experimento los animales de los grupos S e I se encontraban en pastoreo), condiciones experimentales (las vacas permanecieron estabuladas durante los 60 días del experimento) y a la pérdida de peso vivo (0.16 y 0.106 kg/vaca y día) para I y S), pese a un mayor consumo de materia seca, con valores medios de 16.8; 17.1 y 20.1 kg/VL y día. Las respuestas marginales en leche por kilo de concentrado entre I y S fue de 0.47 kg de leche y, 0.28 kg cuando se corrige al 4% graso.

La eficiencia bruta (kg de leche por kg de materia seca ingerida) fue mayor en P ( $P < 0.001$ ), con valores medios de 1.34; 1.10 y 1.02 kg/kg para P, S e I respectivamente (Tabla 2). Para el conjunto de datos se apreció un descenso lineal respecto al aporte de concentrado ( $P < 0.001$ ), con una pendiente de 0.04 kg de leche/kg de concentrado (Figura 1). De igual modo, la producción de leche por kg de materia seca ingerida procedente del forraje descendió linealmente por kg de concentrado añadido, siendo la ecuación resultante:  $\text{kg leche/kg MS forraje} = 1.39 - 0.067 \text{ kg concentrado}$ ;  $r^2 = 0.57 \pm 0.15$ ; con valores medios de 1.26; 0.89 y 0.75 para P, S e I respectivamente, imputable al efecto de sustitución del concentrado, con valores medios de 144, 116 y 101.6 MJ/d para los tratamientos anteriormente citados, similar a lo observado por Salcedo (1999 y 2003) para los grupos P y S. Al comparar el consumo de nutrientes respecto al *Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS 5.0) las producciones estimadas resultan ser de 21.82; 15.93 y 24.7 kg para P, S e I respectivamente desde el consumo de energía metabolizable, coincidente para P y diferente en S e I a la leche real producida.

Tabla 2.- Producción y composición química de la leche

	Sistema				Significación			
	P	S	I	e.e.m.	Concentrado	Período	L	C
Leche (kg/d)	22.66	18.61	20.58	0.43	***	NS	***	***
Leche 4%	22.54	19.13	21.02	0.42	***	NS	***	*
Kg/kg MS	1.33	1.10	1.02	0.037	***	NS	***	***
GB (%)	4.11	4.2	4.13	0.048	NS	*	NS	NS
Kg GB/d	0.9	0.77	0.85	0.018	***	NS	**	***
PB (%)	3.41	2.98	3.08	0.038	***	*	***	***
Kg PB/d	0.74	0.55	0.63	0.013	***	**	***	***
SNG (%)	8.8	8.53	8.65	0.036	**	NS	*	***
Kg SNG/d	1.95	1.58	1.78	0.036	***	NS	***	***
Urea (mg/dl)	28.07	16.53	18.25	0.77	***	NS	***	***
EB leche (MJ)	70.56	59.7	65.7	1.32	***	NS	***	***
E-EM (%)	36.13	35.11	31.02	0.71	***	NS	***	NS
E-N (%)	22.17	21.64	19.87	0.45	NS	NS	***	NS

GB: Grasa bruta; PB: Proteína bruta (N, x 6.38); SNG: Sólidos no grasos; EB: Energía bruta; E-EM: Energía bruta en leche por 100 MJ de energía metabolizable ingerida; E-N: gr de N leche por 100 gr de N ingerido; e.e.m.: error estándar de la media; L: Lineal; C: Cuadrático; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$

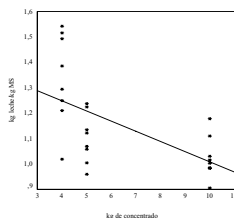


Respecto a la composición química de leche, el hecho más significativo, fue el mayor contenido de urea en leche en el grupo de pastoreo ( $P < 0.001$ ), atribuido al mayor consumo de proteína degradable ( $P < 0.001$ ), donde la pendiente obtenida resulta ser 10.0 mg/kg de proteína degradable ingerida (Figura 2); si bien existe coincidencia entre la concentración de urea estimada por el CNCPS y la observada, no sucede así con las del grupo a pastoreo, que es subestimada en un 24.93%.

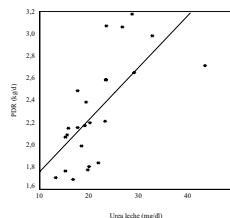
Pese a la diferente modalidad de conservación del ensilado, la digestibilidad de la fibra neutro detergente *in vitro* fue semejante (60.3% del ensilado en macrobolsas y 62.9% el de rotopacas), no afectando a la producción láctea entre períodos, aunque sí al porcentaje en grasa (Tabla 2), imputable al picado del ensilado ofrecido a I y S durante el primero. El menor porcentaje de sólidos no grasos se registró en los grupos S e I (Tabla 2), imputable a la pérdida de peso en estos grupos.

Durante el primer período, las vacas del grupo I suplementadas con 10 kg de concentrado, sufrieron una ligera acidosis ruminal (datos no publicados), lo que pudo incidir sobre el porcentaje graso de la leche así como la producción frente a las vacas en pastoreo. Para la proteína, los porcentajes mayores se registraron en las vacas a pastoreo ( $P < 0.001$ ), con valores medios de 3,41%, 2,982% y 3,08% para los grupos P, S e I respectivamente. Del mismo modo, la eficiencia de utilización de la energía metabolizable (energía metabolizable ingerida respecto a la energía bruta excretada en leche, Tyrrell y Reid, (1965), fue 2.82% y 14.14% menor en S e I respecto a P, disminuyendo de forma lineal al aporte de concentrado (Tabla 2). La utilización del N (N excretado en leche respecto al ingerido) no fue diferente entre grupos, pese a la mayor ingestión de N en P ( $P < 0.001$ ).

Los resultados del presente experimento, no permiten concluir que las diferencias de producción láctea sean exclusivamente debidas al mayor aporte de concentrado sino que el cambio en la dieta asociado a un manejo intensivo en vacas habituadas al pasto enmascara dichas diferencias.



$\text{Kg leche/kg MS} = 1.40 - 0.04 \text{ kg concentrado}; \pm 0.16 \text{ } r^2=0.34$



$\text{Urea (mg/dl)} = -1.4 + 10 \text{ kg PDR}; \pm 5.02 \text{ } r^2=0.47$

Figura 1. Kg leche/kg MS ingerida según sistema

Figura 2. Relación urea leche con PDR ingerida

## BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, A.; Pérez, J. A. 2004. V Congreso de Economía Agraria. Santiago de Compostela.
- Fox, D.G.; T.P. Tylutki; L.O. Tedeschi; M.E. Van Amburgh; L.E. Chase; A.N. Pell; T.R. Overton; J. B. Russell. CNCPS 5.0.
- Salcedo, G. 1999. Actas XXXIX R. C. De la S.E.E.P. Almería. 471-476.
- Salcedo, G. 2003. Ponencia Universidad Internacional Menéndez Pelayo. Santander
- Tyrrell, H.E.; Reid, J.T. 1965. J. Dairy Sci. 48: 1215-1233.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al INIA por la financiación del proyecto RTA03-011 titulado "Optimización de la dieta de ganado vacuno para una producción sostenible y de calidad", que posibilitó la realización de dicho trabajo.

## **ESTUDIO DEL PESO VIVO DE CORDERAS DE RAZA CHURRA DURANTE LA FASE DE CRECIMIENTO.**

R. Rodríguez, L.F. de la Fuente, F. San Primitivo  
Dep. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León (España)

### **INTRODUCCIÓN**

En hembras lecheras de reposición, altas tasas de crecimiento en el periodo prepuberal, pueden causar una severa restricción del potencial lechero. Esto ha sido demostrado en muchos experimentos en novillas (18), así como en corderas (20). El efecto negativo de tasas de crecimiento prepuberal elevadas, se debe a una inhibición del desarrollo del parénquima mamario (16). En las corderas, el desarrollo parenquimal sólo se ve afectado por tasas de crecimiento previas a las 20 semanas de edad (14).

El objetivo de este trabajo es el estudio de los factores de variación que afectan al peso vivo de las corderas de raza Churra criadas en granjas comerciales, desde el nacimiento hasta las 36 semanas de edad, así como una aproximación a la modelización del crecimiento en esta fase. Este trabajo debe ser entendido como un primer paso hacia la investigación de diferentes ritmos de crecimiento en corderas y su influencia en la productividad de los animales adultos.

### **MATERIAL Y METODOS**

Se recogió un total de 1346 pesos de 643 corderas menores de 36 semanas de edad, procedentes de 7 rebaños involucrados en el programa de mejora de la raza Churra, todos ellos situados en Castilla y León. Los pesos se tipificaron a 9 edades tipo entre 10 y 240 días, usando el método de la interpolación lineal. Los datos fueron analizados mediante un modelo lineal de efectos fijos

$$Y_{ijklm} = \mu + TP_i + EDAMA_j + ESTA_k + REBA_l + e_{ijkl}$$

$Y_{ijklm}$  = peso vivo a los 10, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 o 240 días;  $TP_i$  = efecto fijo del tipo de parto;  $EDAMA_j$  = efecto fijo de la edad de la madre;  $ESTA_k$  = efecto fijo de la estación de nacimiento;  $REBA_l$  = efecto fijo del rebaño;  $e_{ijklm}$  = efecto residual aleatorio. Para el análisis de la varianza, se utilizó el procedimiento GLM del SAS. Los componentes de varianza se estimaron usando el procedimiento VARCOMP del SAS.

A partir del peso vivo medio ajustado para cada una de las edades tipo, se aproximó un modelo de crecimiento para las corderas de raza Churra hasta las 36 semanas de vida. El peso al nacimiento fue fijado a partir de la ordenada al origen de la regresión de la edad sobre los pesos ajustados para corderas menores de 7 días. El peso adulto se tomó como la media de pesos de ovejas mayores de 3 años, ajustados para los factores rebaño, condición corporal y mes de lactación (9). Se estudiaron 5 funciones de crecimiento: 2 lineales (regresión simple y en dos pasos), cuyos parámetros se fijaron por el procedimiento REG del SAS y tres exponenciales (Brody, Gompertz y Richards), fijándose sus parámetros mediante el procedimiento NLIN del SAS. El ajuste de los modelos fue juzgado mediante el coeficiente de determinación.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### Factores que afectan al peso vivo

Los resultados del análisis de la varianza y de los componentes de la varianza para las edades tipo se dan en la tabla 1, y las medias mínimo cuadráticas para los factores estudiados aparecen en la tabla 2.

Tabla 1: ANOVA y componentes de varianza para el peso vivo de corderas de raza Churra menores de 36 semanas

Edad (días)	N	Tipo de parto			Rebaño			Estación			Edad madre			R <sup>2</sup>
		g.l.	F	%Var	g.l.	F	%Var	g.l.	F	%Var	g.l.	F	%Var	
10	141	1	6,43*	6,02%	4	4,85**	12,21%	2	4,16*	35,06%	6	2,18*	1,47%	0,3218
30	201	1	25,51***	22,29%	4	3,78**	6,17%	2	1,52	1,31%	6	1,58	-	0,2585
60	140	1	5,43*	14,23%	3	1,83	5,95%	2	4,44*	14,96%	6	0,64	-	0,2113
90	103	1	14,36***	17,44%	5	3,05*	10,95%	1	0,77	7,08%	6	3,34*	3,44%	0,3166
120	292	1	8,85**	2,24%	6	28,40***	42,05%	3	1,96	17,66%	6	1,59	2,17%	0,5487
150	182	1	11,00**	6,26%	6	5,82***	5,15%	1	0,09	18,33%	6	1,95	2,05%	0,3230
180	75	1	6,78*	1,41%	3	4,18**	4,76%	1	4,38*	-	6	1,23	1,45%	0,2749
210	79	1	2,29	-	2	0,44	-	2	0,37	-	6	0,88	1,77%	0,1107
240	58	1	4,21*	8,94%	1	1,11	-	1	0,82	3,18%	6	1,52	-	0,2336

Tabla 2: Medias del peso de corderas Churras menores de 36 semanas para el tipo de parto, rebaño estación y edad de la madre, y el test de significación para la diferencia entre medias

	Edad (días)									
	10	30	60	90	120	150	180	210	240	
<b>Tipo de parto</b>										
Simple	6.73 <sup>a</sup>	11.81 <sup>a</sup>	16.29 <sup>a</sup>	21.84 <sup>a</sup>	24.22 <sup>a</sup>	28.56 <sup>a</sup>	29.36 <sup>a</sup>	33.62	38.51 <sup>a</sup>	
Doble	6.24 <sup>b</sup>	10.38 <sup>b</sup>	14.52 <sup>b</sup>	18.96 <sup>b</sup>	22.66 <sup>b</sup>	25.88 <sup>b</sup>	26.44 <sup>b</sup>	31.92	35.70 <sup>b</sup>	
<b>Rebaño</b>										
BR	-	-	-	23,39 <sup>a</sup>	30,04 <sup>a</sup>	34,21 <sup>a</sup>	-	-	-	
DN	-	11,81 <sup>a</sup>	15,48	21,42 <sup>a</sup>	26,26 <sup>b</sup>	29,68 <sup>a</sup>	-	-	-	
DW	6,94 <sup>ac</sup>	10,49 <sup>bc</sup>	14,65	20,45 <sup>a</sup>	23,33 <sup>c</sup>	28,59 <sup>a</sup>	29,93 <sup>a</sup>	33,63	37,98	
IQ	6,90 <sup>a</sup>	11,16 <sup>ac</sup>	-	20,55 <sup>ab</sup>	24,77 <sup>bc</sup>	28,46 <sup>a</sup>	28,83 <sup>a</sup>	32,45	35,70	
K.	5,94 <sup>b</sup>	-	14,84	19,35 <sup>ab</sup>	24,28 <sup>bc</sup>	19,33 <sup>b</sup>	23,95 <sup>b</sup>	32,23	-	
SE	6,33 <sup>ab</sup>	11,66 <sup>ab</sup>	16,65	17,22 <sup>b</sup>	19,37 <sup>d</sup>	26,70 <sup>a</sup>	28,90 <sup>a</sup>	-	-	
VG	6,33 <sup>bc</sup>	10,37 <sup>b</sup>	-	-	16,02 <sup>c</sup>	23,58 <sup>c</sup>	-	-	-	
<b>Estación de nacimiento</b>										
Invierno	6,34 <sup>a</sup>	10,62	16,36 <sup>a</sup>	19,94	24,15	26,93	25,97 <sup>a</sup>	31,82	-	
Primav.	6,01 <sup>ab</sup>	12,14	16,51 <sup>a</sup>	-	20,03	-	-	-	-	
Verano	-	-	-	-	24,19	-	-	33,77	36,48	
Otoño	7,11 <sup>b</sup>	10,53	13,34 <sup>b</sup>	20,85	25,37	27,52	29,84 <sup>b</sup>	32,73	37,73	
<b>Edad de la madre</b>										
2 años	5,91 <sup>a</sup>	10,22 <sup>a</sup>	14,77	17,53 <sup>a</sup>	23,91 <sup>ab</sup>	27,46 <sup>ab</sup>	28,57 <sup>ab</sup>	28,54	43,62 <sup>a</sup>	
3 años	6,48 <sup>b</sup>	11,08 <sup>b</sup>	15,35	20,05 <sup>a</sup>	23,56 <sup>ab</sup>	25,95 <sup>a</sup>	27,98 <sup>ab</sup>	32,40	34,96 <sup>ab</sup>	
4 años	6,75 <sup>b</sup>	11,18 <sup>b</sup>	15,50	22,05 <sup>b</sup>	24,10 <sup>a</sup>	28,00 <sup>b</sup>	30,01 <sup>a</sup>	34,29	36,68 <sup>ab</sup>	
5 años	6,73 <sup>b</sup>	11,54 <sup>b</sup>	16,08	22,98 <sup>b</sup>	23,91 <sup>ab</sup>	29,02 <sup>b</sup>	26,00 <sup>b</sup>	35,16	36,89 <sup>ab</sup>	
6 años	6,68 <sup>b</sup>	11,48 <sup>b</sup>	15,37	21,43 <sup>ab</sup>	24,06 <sup>ab</sup>	27,86 <sup>ab</sup>	28,50 <sup>ab</sup>	32,29	34,15 <sup>ab</sup>	
7 años	6,77 <sup>ab</sup>	11,01 <sup>ab</sup>	14,59	19,02 <sup>a</sup>	22,21 <sup>b</sup>	26,53 <sup>ab</sup>	26,83 <sup>ab</sup>	34,34	39,70 <sup>a</sup>	
8 años	6,10 <sup>ab</sup>	11,15 <sup>ab</sup>	16,16	19,71 <sup>a</sup>	22,31 <sup>b</sup>	25,74 <sup>a</sup>	27,41 <sup>ab</sup>	32,36	33,71 <sup>b</sup>	

- *Tipo de parto*: Los corderos nacidos de partos simples fueron más pesados que los nacidos de partos múltiples a cualquier edad, lo que concuerda con otros autores (2;5;10;17). Aun habiendo diferencias significativas en los pesos postdestete, la contribución de este factor a la varianza total disminuye desde los 90 días de edad, al igual que en otras razas (7;3;15)

- *Rebaño*: En general, las diferencias entre rebaños fueron significativas en todas las edades, aunque mostraron un comportamiento errático, lo cual se observa típicamente en rebaño comerciales (19;13), debido a diferencias en factores como manejo, alimentación, alojamientos, los cuales varían mucho entre rebaños de oveja Churra (8)

- *Estación de nacimiento*: Este factor fue significativo en el periodo de lactancia. La importante contribución de este factor a la varianza total en edades postdestete probablemente se deba a la pérdida de importancia de los efectos maternos en esta fase (21;3)

- *Edad de la madre*: Este factor sólo afecta los pesos en la fase de lactancia (7;3;11). Las ovejas de 4 y 5 años producen los corderos más pesados, mientras que las de 2 años producen los más ligeros (1;4;2;15). La varianza debida a este factor es menor a la señalada en otras razas, probablemente debido a la aptitud láctea de la oveja Churra.

#### Ajuste de la curva de crecimiento.

Los modelos se calcularon basándose en los pesos ajustados para los factores previamente estudiados. Todos los modelos fueron altamente significativos. Los coeficientes de determinación fueron los siguientes: Richards: 99,97%; Lineal en dos pasos: 99,88%; Brody: 99,88%; Gompertz: 99,81%; Lineal simple: 99,17%.

Todos los modelos tienen un buen ajuste. La función de Richards, además de presentar el mayor coeficiente de determinación, parece ser el modelo más robusto para extrapolación (12). Los modelos lineales, por su sencillez, son apropiados para su utilización como herramienta de manejo. El modelo en dos pasos, frente a la regresión simple, describe mejor el crecimiento, pero presenta un brusco cambio en la tasa de crecimiento en el punto de inflexión (6)

### CONCLUSIONES

Han sido identificados factores ambientales con importantes influencias sobre los pesos vivos de las corderas en la fase de crecimiento prepuberal. El conocimiento de estos factores debería ser utilizado en futuros estudios sobre el crecimiento prepuberal de las corderas de raza Churra. Los principales factores a incluir en el modelo son tipo de parto, rebaño y estación de nacimiento. La edad de la madre sólo debería incluirse para pesos predetete. La curva de crecimiento propuesta para corderas de raza Churra de menos de 36 semanas de vida es la Richards:  $y = (225,17 - 218,09 \cdot \exp(-2,47 \cdot 10^{-3}t))^{0,77}$ , siendo  $y$  el peso vivo expresado en kg y  $t$  la edad en días.

### REFERENCIAS

1. Abassa, K.P., Pessinaba, J., Adeshola, A., 1992. *Revue Elev. Med. vet. Pays trop.*, 45 (1), 49-54.
2. Analla, M., Montilla, J.M., Serradilla, J.M., 1998. *Small Rumin. Res.* 29, 255-259.
3. Bathaei, S.S., 1995. *Revue Elev. Med. vet. Pays trop.*, 48 (2), 181-194.
4. Bathaei, S.S., Leroy, P.L., 1994. *Revue Elev. Med. vet. Pays trop.*, 47 (1), 113-116.
5. Bathaei, S.S., Leroy, P.L., 1998. *Small Rumin. Res.* 29, pp. 261-269.
6. Behr, V. de, Hornick, J.L., Cabaraux, J.F., Alvarez, A., 2001. *Livest. Prod. Sci.* 71, 121-130.
7. Buvanendran, V., Makuza, S.M., Chironga, P., 1992. *Small Rumin. Res.* 7, 369-374.
8. Cappelletti, C.A., 1998. PhD Thesis, Universidad de León.
9. Caravilla, S., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F., 1997. *ITEA* 18(1), 339-341.
10. Dixit, S.P., Dhillon, J.S., Singh, G., 2001. *Small Rumin. Res.* 42, 101-104.
11. El Fadili, M., Michaux, C., Detilleux, J., Leroy, P.L., 2000. *Small Rumin. Res.* 37, 203-208.
12. Goonewardene, L.A., Berg, R.T., Hardin, R.T., 1981. *J. Anim. Sci.* 61, 1041-1048
13. Hassen, Y.; Sölkner, J.; Gizaw, S.; Baumung, R., 2002. *Small Rumin. Res.* 43, 195-202.
14. Johnsson, I.D., Hart, I.C., 1985. *Anim. Prod.* 41, 323-332.
15. Matika, O.; Van Wyck, J.B.; Erasmus, G.J.; Baker, R.L., 2003. *Small Rumin. Res.* 48, 119-126.
16. McCann, M.A., Goode, L., Harvey, R.W., Caruolo, E.V., 1989. *Theriogenology* 32(1), 55-68.
17. Rastogi, R.K., 2001. *Small Rumin. Res.* 41, 171-175.
18. Sejrsen, K., Purup, S., 1997. *J. Anim. Sci.* 75, 828-835
19. Sinha, N.K.; Singh, S.K., 1997. *Small Rumin. Res.* 26, 21-29.
20. Tolman, B., McKusick, B.C. 2001. *Proc. 7th Great Dairy Sheep Symposium*, pp. 143-155.
21. Wilson R.T., 1987. *Anim. Prod.* 45, pp. 223-232.

## EFFECTO DEL ESQUILEO INVERNAL REALIZADO AL FINAL DE LA GESTACIÓN SOBRE LA INGESTIÓN EN OVEJAS DE RAZA LATXA.

Ruiz R., Arranz J., Beltrán de Heredia I., García A., Oregui L.M.  
NEIKER A.B., Apdo. 48, 01080 Vitoria-Gasteiz

### INTRODUCCIÓN

La realización de esquila invernal es una práctica utilizada en ciertos sistemas de ovino de carne. En primer lugar permite mantener unas mejores condiciones higiénicas de los animales durante el periodo de estabulación permanente, facilita la vigilancia de los partos y reduce las necesidades de espacio. Por otro lado, la compensación de las mayores pérdidas de calor en esos animales se relaciona con un aumento en su tasa metabólica y de la ingestión, lo que se suele asociar con un mayor peso de los corderos al nacimiento y menor mortalidad perinatal. El objetivo del presente estudio ha sido evaluar el efecto del esquila antes del parto sobre la ingestión en gestación de ovejas lecheras de raza Latxa, así como conocer su efecto sobre los principales parámetros productivos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos lotes de ovejas dentro del rebaño de ovejas de raza Latxa de NEIKER-Arkaute, lo más homogéneos posible en PV y potencial lechero, para lo que se consideraron los datos de producción de campañas precedentes. De esta manera se dispuso de 56 ovejas en 2004 y 64 en 2005, inseminadas el 22/08/2003 y el 25/08/2004 respectivamente, y gestantes. La mitad de ellas se esquilieron el 9/12/2003 y el 3/12/2004. Tanto las ovejas esquiladas (E) como las ovejas testigo (T) se dividieron en cuatro sublotes de peso vivo (PV) similar constituidos por 7 ovejas en 2004 y 8 en 2005. Tras un periodo de acostumbramiento de 5 días se procedió a controlar las ofertas de alimento y los rechazos en cada sub lote durante 7 días. La alimentación en ese periodo consistió en silo de hierba *ad libitum* y pienso: el primer año 470 g /oveja de una mezcla de cereal formado por 50% trigo y 50% cebada (12% PB), y el segundo 400 g/oveja de pienso comercial de lactación para ovejas (20% PB). El análisis del peso al nacimiento de los corderos se realizó utilizando el siguiente modelo de análisis de varianza (SAS, 1990):

$$y = L_i + A_j + P_k + S_l + LxA_{ij} + LxP_{ik} + e_{ijkl}$$

en el que  $y$  corresponde al PV (kg) de los corderos al nacimiento;  $L$  es el efecto del lote (E y T);  $A$  es el efecto del año (2004 y 2005);  $P$ , prolificidad o el tamaño de la camada (1, 2, o más de 2);  $S$  es el efecto del sexo del cordero.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso medio del vellón obtenido por oveja fue de 2,34 y 2,4 kg, respectivamente en cada uno de los años, el cual fue descontado del peso de los animales del lote T para la evaluación de su ingestión. Los resultados de ingestión total de los lotes E y T en ambos años se resumen en la Tabla 1. Las diferencias de ingestión corresponden a las observadas en el consumo de forraje ya que el de pienso fue igual en todos los lotes. El consumo total expresado por kg de PM fue un 17% y 24% superior en las ovejas E para los años 2004 y 2005, respectivamente. Estos mayores consumos de las ovejas E son comparables a los encontrados en la literatura: entre 1,16 y 1,43 con raciones basadas en silo y cebada (Vipond et al., 1987) o 1,14 con silo y concentrados (Morgan y Broadbent, 1987). El mayor consumo de las ovejas esquiladas se relaciona con el aumento de las necesidades

para el mantenimiento de la homeotermia o con una reducción del estrés calórico en el último tercio de la gestación (Vipond et al., 1987), y se acompaña de un incremento de la velocidad de tránsito del alimento a nivel ruminal.

El efecto del esquila sobre la ingestión fue superior en el año 2005. Distintos autores han descrito diferencias interanuales del efecto del esquila; en el presente trabajo estas diferencias podrían ser debidas a unas peores condiciones climáticas en el segundo año, junto a la menor prolificidad de las ovejas E frente a del lote T en esa misma paridera (1,54 vs 1,89).

**Tabla 1.** Resultados de ingestión total (silo+pienso) en ovejas de raza Latxa esquiladas y testigo durante las últimas semanas de gestación

	Lote	2004			2005		
		PV (kg)	Ingestión diaria (g/kg PV)	MS (g/kg PM)	PV (kg)	Ingestión diaria (g/kg PV)	MS (g/kg PM)
<b>Testigo</b>	1	59,81	22,18	61,67	53,11	21,72	58,62
	2	64,36	20,64	58,46	60,56	19,21	53,58
	3	68,97	19,47	56,10	67,81	17,47	50,13
	4	75,89	17,93	52,93	74,94	15,58	45,84
	$\bar{x}$	67,26	19,97	57,29	64,10	17,77	52,04
<b>Esquiladas</b>	1	53,41	27,51	74,37	52,86	27,17	73,26
	2	58,91	24,73	68,51	60,19	24,05	66,99
	3	65,19	23,35	66,34	67,54	21,14	60,61
	4	74,61	19,98	58,74	74,48	19,15	56,26
	$\bar{x}$	63,03	23,45	66,99	63,77	21,59	64,28
<b>Dif</b>		-4,22	3,48	9,7	-0,34	3,82	12,24

Paralelamente al incremento de la ingestión, se ha observado un ligero aumento de 0,9-1,2 días en la duración de la gestación en las ovejas del lote E (Tabla 2). Este efecto también ha sido descrito en otras razas (Vipond et al., 1987) con aumentos de 1,3 a 2,5 días, que se asocia con la reducción del estrés térmico a final de gestación.

El modelo anteriormente descrito, empleado para analizar el PV de los corderos al nacimiento, permitió explicar el 36% de la varianza observada. Tal como se indica en la Tabla 3, la prolificidad ( $P < 0,001$ ), la realización o no de esquila ( $P < 0,01$ ), junto con la interacción entre este y el año ( $L \times A$ ;  $P < 0,05$ ) fueron los únicos factores que afectaron significativamente al peso de los corderos al nacimiento.

**Tabla 2.** Valores medios de las principales características de la gestación y parto de las ovejas incluidas en el ensayo.

Año	FMP	Testigo			Esquiladas			Diferencia	
		Std	Gest	Prolif.	FMP	Std	Gest	Prolif.	FMP
2003-04	20/01/04	2,29	151	1,64	21/01/04	1,43	153	1,79	1,2 días
2004-05	23/01/05	2,63	152	1,89	24/01/05	2,28	153	1,53	0,9 días

FMP: Fecha media de parto; Std: Desviación estándar de la FMP; Gest: duración media de la gestación; Prolif: tamaño medio de la camada.

El efecto del esquila sobre el tamaño de los corderos, sería una de las razones de su realización, y se debería a la práctica *per se*, independientemente de la mayor ingestión observada o del aumento en la duración de la gestación (Vipond et al., 1987). Los incrementos observados en el presente estudio, son inferiores a los descritos por otros autores, 0,7-0,8 kg en los partos simples (Vipond et al., 1987) y de hasta 1 kg en los de partos dobles (Revell et al., 2000). No obstante, los

resultados no son siempre coincidentes. En los trabajos citados las diferencias descritas para partos simples y dobles no se observaron en los dobles y simples, respectivamente, y otros autores no observaron ningún efecto de la practica de esquila invernal sobre el peso al nacimiento (Russel et al., 1985).

**Tabla 3.** Efecto de los factores considerados en el análisis de varianza del peso al nacimiento de los corderos y medias de mínimos cuadrados (g) de los mismos para los distintos niveles considerados.

<b>Lote (L)</b> **		<b>Año (A)</b> n.s.		<b>Prolificidad (P)</b> ***		<b>Sexo</b> n.s.		<b>LxA</b> *		<b>LxP</b> n.s.	
Nivel	Lsmean (e.e.)	Nivel	Lsmean (e.e.)	Nivel	Lsmean (e.e.)	Nivel	Lsmean (e.e.)	Nivel	Lsmean (e.e.)	Nivel	Lsmean (e.e.)
E	4375 <sup>a</sup> (112)	2004	4207 (87)	1	4901 <sup>a</sup> (192)	♂	4174 (95)	E-04	4279 <sup>a</sup> (122)	E-1	5059 (191)
T	3971 <sup>b</sup> (105)	2005	4138 (113)	2	4164 <sup>b</sup> (79)	♀	4171 (102)	E-05	4471 <sup>a</sup> (171)	E-2	4434 (115)
				>2	3453 <sup>c</sup> (167)			T-04	4137 <sup>ab</sup> (124)	E->2	3632 (242)
								T-05	3806 <sup>b</sup> (149)	T-1	4745 (175)
										T-2	3895 (110)
										T->2	3274 (234)

n.s. no significativo; \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001. Medias con distinto superíndice, difieren entre sí (P<0,05) dentro de la misma columna.

La respuesta en el peso de los corderos estaría condicionada a la potencialidad para responder, y la existencia de las condiciones que permitan esta respuesta (Kenyon et al., 2002). La interacción observada entre esquila y año, apuntaría en esta dirección. La mayor respuesta observada en 2005 podría estar relacionada con las características de la dieta, y en particular con el nivel de proteína del concentrado, especialmente si se tiene en cuenta la influencia del aporte de proteína sobre el peso de los corderos al nacimiento (Robinson, 1983), así como por la mayor ingestión observada en las ovejas E frente a las T (Tabla 1).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kenyon P.R.; Morris S.T.; Revell D.K.; McCutcheon S.N. 2003. N. Z. Vet. J.. 51: 200-207.
- Morgan H.; Broadbent J.S. 1980. Anim. Prod. 30:476 (Abstract)
- Revell DK, Main SF, Breier BH, Cottam YH, Hennes M, McCutcheon SN. 2000. Domest Anim Endocrinol. 18: 409-422.
- Revell, DK; Morris, ST; Cottam, YH; Hanna, JE; Thomas, DG; Brown, S; McCutcheon, SN. 2002. Australian J. Agric. Res. 53: 697-705.
- Robinson, J.J. 1983. "Sheep Production" Editado por W. Haresign. Ed Butterworths, Londres U.K. pp 111-131.
- Russel A.J.F., Armstrong R.H., White I.R. 1985. Anim. Prod. 40: 47-53.
- SAS User's Guide. 1990. SAS Inst., Inc., Cary, NC: USA.
- Vipond, J.E.; King, M.E.; Inglis D.M.; Hunter E.A. 1987. Anim. Prod. 45, 211-221.

## PRODUCTIVIDAD DEL OVINO CRIOLLO DE LA ZONA ALTO-ANDINA DEL PERU A DIFERENTES PERIODOS DE CEBO

Carrasco Alarcón, L. S.<sup>1</sup>

Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH), Ayacucho, Perú

### INTRODUCCION

En el Perú existe un déficit de producción de carne de ovino, lo cual obliga a la importación por un valor superior a 26,5 millones de dólares (Rojas, 2003). A esto se suma lo difícil que resulta incrementar la producción cárnica de la especie, pues de una población de 14 millones, el 98% se ubica en la zona Alto-Andina y un 75% son ovinos criollos. Además, pertenecen a comunidades campesinas con pequeños rebaños bajo un sistema de producción tradicional y una baja productividad. Por otra parte, las canales que se obtienen son muy heterogéneas y mal conformadas. El peso medio canal no supera los 10 Kg en animales adultos y la calidad de carne es deficiente. A toda esta problemática se suma el elevado grado de deterioro de los pastos naturales de la zona Alto-Andina, especialmente en épocas de sequía. El objetivo del presente trabajo es conocer la respuesta de los ovinos criollos de una zona Alto-andina del Perú a distintos periodos de cebo bajo un sistema de confinamiento, con el fin de aportar información que permita reducir el periodo de permanencia de los animales en los pastos y la edad de sacrificio.

### MATERIAL Y METODOS

El ensayo tuvo lugar en las instalaciones pecuarias del Programa de Investigación en Pastos y Ganadería de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; ubicada en la ciudad de Ayacucho a 2.750 m.s.n.m., 74°31' de longitud y 13°08' de latitud sur. Tuvo una duración de 90 días comprendidos entre los meses de junio y agosto del 2004. Se utilizaron 42 corderos machos enteros de raza criolla de 1 año de edad aproximadamente. Los animales procedían de la comunidad campesina de Punkupata (3.200 metros sobre el nivel del mar) en el departamento de Ayacucho-Perú, habiendo sido criados bajo un sistema extensivo y alimentados con pastos espontáneos de la zona (*Festuca sp.*, *Calamagrostis vicunarium*, *Mulhlenbergia fastigiata*, *Alchemilla pinnata*, entre otras).

Los animales recién llegados fueron trasladados a un corral colectivo para ser desparasitados tanto externa como internamente, identificados y pesados. Se conformaron grupos de 6 animales, al azar, haciendo los 7 tratamientos del experimento correspondientes a los periodos de cebo de 0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días. Se consideró una etapa pre-experimental de 7 días para acostumar a los animales al confinamiento y el nuevo alimento. La ración, suministrada ad libitum estuvo conformada por una fuente forrajera (paja de avena) y un concentrado de producción local (Tabla 1). Los animales dispusieron de agua fresca y limpia de forma constante. Se llevaron registros diarios de consumo de alimento y semanales de peso en ayunas. Las variables evaluadas fueron: consumo de alimento, incremento promedio quincenal de peso, conversión alimenticia y rendimiento de los animales al sacrificio.

---

<sup>1</sup> Doctoranda en el Programa de Producción Animal del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Miguel Server 177 (50013) Zaragoza (España).



Los datos fueron analizadas mediante Análisis de Varianza y la prueba de DMS, haciendo uso del paquete estadístico SAS.

Tabla 1. Composición de la dieta.

Insumo	%	Análisis Químico Bromatológico %	
Pasta de algodón	10,86	Materia seca	91,58
Urea	1,37	E.M. Mcal/ Kg	2,30
Cebada	30,19	FND	57,64
Maíz amarillo	5,14	Proteína bruta	12,50
Residuo de molinería	1,99	Fibra bruta	23,30
Sal yodada	0,47	Ext. Etéreo	2,47
Suplamin	0,47		
Paja de avena	49,55		

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Consumo de alimentos y el índice de conversión alimenticia

Tanto el consumo de alimento como el índice de conversión alimenticia mejoran a medida que se incrementan los periodos de cebo (Tabla 2). Para el consumo se encontró una media diaria de 0,66 kg/ ovino, inferior al reportado por Quintanilla 1,1-1,4 kg para esta categoría de animales pero de distinta procedencia, y similar al obtenido por Bautista (1987) quien menciona ganancias de 0,49-0,78 kg. Experiencias similares con animales de raza carnífera reportan valores de 1,48 – 1,8 kg. Esta diferencia responde a la inferioridad genética de estos animales. Respecto al índice de conversión alimenticia, los valores mejoran significativamente a partir de los 60 días, siendo el óptimo para 75 días de cebo.

Tabla 2. Consumo de alimento (kg M.S.) e índice de conversión alimenticia por periodo de cebo

Periodo de Cebo	Consumo de alimento		Índice de conversión alimenticia
	kg/ día/ ovino	Acumulado	
15	0,46	6,97	7,4 a
30	0,53	14,89	8,1 a
45	0,62	24,13	8,1 a
60	0,71	34,74	6,8 b
75	0,78	46,40	5,9 c
90	0,86	59,24	6,3 b
Consumo/ ovino	0,66		

a, b, c letras distintas difieren significativamente (P<0.05)

### Incremento de peso vivo y rendimiento de la canal

La respuesta animal encontrada para estos parámetros responde al crecimiento compensatorio, producto de la mejora alimenticia con una mayor ingestión de alimentos y notorio incremento paulatino de peso vivo y canal (Tabla 3). Mejor respuesta se logró a 75 días de cebo, con 179,8 g/ día, superior a los 80-110 g encontrados por Quintanilla (1999) para este periodo. Los mejores valores destacan

desde los 60 días, con incrementos significativos de 141,7 a 179,8 g/ día. Respecto al promedio de incremento de peso, el experimento reporta 115 g/ día/ ovino, similar al observado por Quintanilla (1999) y Bautista (1987), superior a 65 y 59 g/ día/ ovino encontrado por Quicaña (1986) y Estebes (1988); quienes trabajaron con ovinos criollos. Estos valores son inferiores a los reportados por diversos investigadores (Aliaga 2000) cuando trabajaron con animales de la raza Corridale, Blackbelly, Junín y Hampshire down cuyos valores promedios oscilan entre 180-268 g/ día.

Para rendimiento de canal, el peso de la misma a inicio de experimento fue de 5.8 kg, pues se trabajó con animales tiernos, al final del experimento se logró 47,7% de rendimiento con 12 kg de canal. Quintanilla (1999) señala datos de 41,1-39,5% a inicio de experimento y 49,3 – 50,5%, a final del mismo. Valores similares al del presente trabajo.

Tabla 3. Peso vivo, incrementos acumulados, ganancia diaria media y rendimiento de canal por periodo de cebo

Periodo de Engorde	Peso vivo (D.E)	Incremento de peso (kg.)		Rdto. de Canal %
		Acumulado	Diario	
0	15,6 ± 3,45			37,2 a
15	16,5±2,20	0,9	0,0626 a	38,0 a
30	17,4±3,35	1,8	0,0601 a	39,7 a
45	18,6±3,10	3,0	0,0764 a	40,1 a
60	20,7±2,30	5,1	0,1417 b	44,9 b
75	23,4±2,4	7,8	0,1798 b	45,0 b
90	25,0±1,88	9,4	0,1667 b	47,7 b
Promedio			0,115	

a, b letras distintas difieren significativamente (P<0.05)

En conclusión, este tipo de animales criollos de un año de edad, podrían ser cebados por un periodo de 75 días, lo cual generaría un mejor rendimiento de la canal y un mayor beneficio final a los productores.

La respuesta productiva de los animales del experimento (a veces con valores inferiores), corresponde al sistema de crianza al que están sometidos, con una subalimentación (limitados a la pradera natural degradada); falta de prácticas de manejo, refrescamiento sanguíneo y selección de reproductores. Pese a ello la especie constituye un recurso muy valioso para los lugareños.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aliaga G., Jorge (2002) Producción de ovinos en el Perú. Publicaciones Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú
- Bautista, Felipe (1987) Engorde en confinamiento de ovinos criollos adultos en Chiara a 3500 msnm. Tesis de investigación. UNSCH-Perú
- Estebes, Delfin (2002) Efecto de la urea como fuente proteica en un concentrado local en el engorde de ovinos criollos adultos, en Ayacucho. Tesis de investigación. UNSCH. Perú
- Quintanilla, Dimas (2000) Efecto de la sustitución parcial de pasta de algodón por úrea agrícola en el engorde de ovinos criollos con dos niveles de energía en Ayacucho. Tesis de investigación. UNSCH.
- Rojas, Sergio (2003) Engorde intensivo de ovinos camino a la mayor productividad. Revista científica veterinaria. Vol 3 No 3. Lima-Perú.

## INFLUENCIA DE DIVERSOS FACTORES SOBRE EL PESO FINAL DE COMERCIALIZACIÓN DEL CABRITO

Caballero de la Calle, J.R.; Santos, M.A.; López Fuentes, F.  
E.U. de Ingeniería Técnica Agrícola de Ciudad Real. UCLM

### INTRODUCCIÓN

El peso final de comercialización del cabrito es un aspecto fundamental para conjugar la rentabilidad del producto y la calidad subjetiva apreciada por el consumidor.

En el crecimiento de los animales intervienen multitud de factores relacionados con el manejo y la alimentación, pero cuando se trata de animales sacrificados a tan corta edad, pensamos que puede haber otros condicionantes que influyen positiva o negativamente en su desarrollo corporal.

En este trabajo tratamos de analizar la influencia que sobre el peso de comercialización de los cabritos tienen aspectos relacionados como la época de nacimiento, su peso al nacimiento, su sexo y el tipo de parto.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utiliza un rebaño de 200 cabras de aptitud láctea de la raza Murciano-Granadina que son cruzadas con machos de la raza Florida, estabulado con orientación a la producción de leche, donde los cabritos son vendidos al final de su crianza, siguiendo el modelo descrito por Castel et al. (1997).

Para la crianza de los cabritos se utilizó la técnica de la lactancia artificial, que puede ser definida como la crianza de los animales durante las primeras etapas de vida post-natal, separados de sus madres y utilizando sustitutivos lácteos en lugar de leche materna (Mantecón et al, 2000).

En la experiencia hemos utilizado el modelo de Gutiérrez et al. (1992) en cuanto al control del cabrito por época de nacimiento, tipo de parto, peso al nacimiento y sexo. Las primeras 24 horas de vida los animales están con las madres tomando los calostros y luego pasan a la sala de lactancia. Los animales permanecen en ella durante tres semanas. Se recoge su peso al nacimiento y el peso final de comercialización a los 21 días.

Se trata de analizar la influencia de diversos factores sobre el peso de comercialización de un grupo de 136 cabritos cruzados de Florida X Murciano-Granadina, divididos en dos lotes diferentes según su época de comercialización (invierno y verano).

Mediante la utilización del paquete estadístico SPSS 11,5 se ha realizado un análisis de la varianza para comprobar la influencia de la época de nacimiento de los cabritos, de su peso al nacimiento, del tipo de parto y del sexo del animal sobre el peso final de comercialización, que responde al siguiente modelo:

$$Y = y + E_i + P_j + T_k + S_l + E_{ijkl}$$

En donde:

Y = datos observados (peso de comercialización)

y = media general

$E_i$  = efecto fijo época de nacimiento,  $i = 1, 2$  (invierno, verano)

$P_j$  = efecto fijo peso al nacimiento,  $j = 1, 2, 3$  (<3 Kg.; 3-3,5 Kg.; >3,5 Kg.)

$T_k$  = efecto fijo tipo de parto,  $k = 1, 2, 3$  (simple, doble, triple)

$S_l$  = efecto fijo sexo del cabrito,  $l = 1, 2$  (macho, hembra)

$E_{ijklm}$  = error residual

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso medio de comercialización de los cabritos fue de  $8,20 \pm 1,39$  Kg., no existiendo diferencias significativas entre épocas de nacimiento (Cuadro 1), siendo esta una de las ventajas que supone la utilización de la lactancia artificial en la crianza de estos animales (Mantecón et al., 2000).

Cuadro 1. Peso de comercialización de los cabritos según su época de nacimiento (Kg.)

Época de nacimiento	N	Peso	Peso mínimo	Peso máximo
Invierno	65	$8,33 \pm 0,21$	7,91	8,75
Verano	71	$8,16 \pm 0,21$	7,94	8,58

En el peso de comercialización de los cabritos existen diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre machos y hembras (Cuadro 2), siendo mayor en los machos, por su mayor peso al nacimiento, estando en este sentido de acuerdo con los resultados de Álvarez (1994) en la raza Florida Sevillana.

Cuadro 2. Peso de comercialización de los cabritos según su sexo (Kg.)

Sexo	N	Peso	Peso mínimo	Peso máximo
Machos	78	$8,48 \pm 0,19^a$	8,09	8,87
Hembras	58	$8,01 \pm 0,21^b$	7,59	8,43

Medias con diferentes superíndices denotan diferencias significativas  $P < 0,05$

Estos resultados son algo inferiores, para los machos (9,46 Kg.), a los obtenidos por Guillen et al. (1990) en raza Verata a los 45 días de edad y sin embargo en el caso de las hembras es inferior (7,75 Kg.). También en el caso de cabritos de raza Serrana a los 45 días de edad (Alía, 1987) estos resultados son inferiores para machos (9,68 Kg.) y hembras (9,03 Kg.). Y en el caso de la raza Malagueña a la misma edad, el peso de los machos es de 9,1 Kg.

Se debe tener en cuenta que los resultados observados por los autores citados se producen en sistemas de lactancia natural. Sin embargo cuando cabritos de raza Serrana son criados en lactancia artificial su peso final a los 28 días es claramente inferior (Martín et al., 1990).

Gutiérrez et al. (1995) indican, en cabritos de raza Murciano-Granadina, que al mes de vida los animales alcanzan pesos superiores a los referidos por otros autores en lactancia natural, en la misma raza y edad. Y así señalan un peso para los machos de 8,23 Kg. y de 7,97 Kg. para las hembras

En cuanto al tipo de parto tenemos que decir que tiene una influencia significativa ( $P < 0,05$ ) sobre el peso final de comercialización del cabrito, siendo este mayor cuando el parto es simple, que cuando es doble o triple (Cuadro 3), no habiendo diferencias significativas entre estos últimos, aunque el número de partos triples es muy bajo. Estas diferencias se podrían explicar por mayor desarrollo inicial de aquellos animales nacidos en partos simples. González et al. (1997) corroboran estos resultados en cabritos de raza Angora.

Cuadro 3. Peso de comercialización de los cabritos según el tipo de parto (Kg.)

Tipo de parto	N	Peso	Peso mínimo	Peso máximo
Simple	47	8,62±0,21 <sup>a</sup>	8,21	9,04
Doble	80	7,93±0,15 <sup>b</sup>	7,63	8,23
Triple	9	8,18±0,45 <sup>b</sup>	7,30	9,06

Medias con diferentes superíndices denotan diferencias significativas  $P < 0,05$

Finalmente el peso al nacimiento de los cabritos tiene una influencia decisiva sobre su peso final de comercialización, ya que pensamos que la edad de venta en nuestra experiencia es lo suficientemente temprana como para que aparezcan estas diferencias.

Los cabritos que nacen con pesos superiores a los tres kilos y medio presentan un mayor desarrollo final mientras que aquellos animales cuyo peso inicial estuvo por debajo de los tres kilos presentan un peso de comercialización significativamente más pequeño (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso de comercialización de los cabritos según su peso al nacimiento (Kg.)

Peso nacimiento	N	Peso	Peso mínimo	Peso máximo
< 3	45	7,87±0,23 <sup>a</sup>	7,42	8,33
3-3,5	51	8,25±0,22 <sup>b</sup>	7,81	8,68
>3,5	40	8,61±0,28 <sup>c</sup>	8,10	9,12

Medias con diferentes superíndices denotan diferencias significativas  $P < 0,05$

## BIBLIOGRAFÍA

- Alía, M.J. (1987). Estudio etnológico y productivo de la agrupación caprina Negra Serrana. Tesis Doctoral. UCM.
- Álvarez, J.J. (1994). Caracterización cárnica en cabritos de raza Florida Sevillana, bajo diversos sistemas de crianza. UCO.
- Castel, J.M.; Caravaca, F.; Delgado, M. (1997). Sistemas de producción de carne de caprino. En Zootecnia: Bases de la Producción Animal. Tomo IX. Mundi-Prensa.
- Falagan, A. (1992). Consideraciones prácticas acerca de los sistemas de producción caprina de leche en el sur de España. XVIII Jornadas de la SEOC.
- González, C.; Delfa, R.; Teixeira, A.; Valderrábano, J. (1997). Efecto del tipo de parto en la composición de la canal de cabritos de raza Angora. ITEA. VII Jornadas Producción Animal.
- Guillen, M.T., Rodríguez, P.L.; Mayoral, A.I.; Tovar, J.; Regodón, S. (1990). Características de la canal de chivos veratos sacrificados a los 45 días de edad. XV Jornadas SEOC.
- Gutierrez, M.J.; García, T.; Herrera, M.; Rodero, E.; Peña, F. (1995). Crecimiento en cabritos Murciano-Granadinos criados en lactancia artificial. XX Jornadas de la SEOC
- Gutierrez, M.J.; Herrera, M.; Rodero, E. (1992). Comportamiento táxico de los cabritos en lactancia artificial. XVIII Jornadas de la SEOC
- Mantecón, A.R.; Giraldez, F.J.; Manso, T.; Lavin, T.; Frutos, P. (2000). Lactancia artificial en ovino y caprino. XXV Jornadas de la SEOC.
- Martin, L.; Martin, J.D.; Rota, A.; Rojas, A.; de la Calle, L. (1990). Lactancia artificial de cabritos en explotaciones de cabras serranas. XV Jornadas de la SEOC.
- Peña, F.; Herrera, M.; Subires, J.; Aparicio, J.B. (1989). Consumo de leche y crecimiento en peso vivo de chivos de raza Malagueña durante la fase de lactación. Archivos de Zootecnia.
- Sanz, R.; Muñoz, F.J.; Lara, L.; Boza, J. (1987). Efectos del nivel de alimentación, clase de leche y edad en el desarrollo de cabritos de raza Granadina. Investigación Agraria. Producción y Sanidad Animales.

## **ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN DEL MODELO DE NORMALIZACIÓN DE FLEISCHMAN PARA LA COMPOSICIÓN MINERAL DE LA LECHE DE OVEJA MANCHEGA.**

P. J. Sánchez, M. Ramón, M. D. Pérez Guzmán, R. Arias y O. Vega,  
CERSYRA. Avda. del Vino, 10. Valdepeñas

### **INTRODUCCIÓN**

El control de rendimientos se establece como una herramienta fundamental en todos los programas de mejora animal. El "International Committee for Animal Recording" (ICAR) tiene establecidos varios tipos de control lechero, aceptados internacionalmente, que se basan en los criterios de economía y calidad de los resultados obtenidos.

A partir de los datos obtenidos del control lechero se calculan los rendimientos productivos de los animales para los caracteres de interés. El método más utilizado es el método de Fleischman, que permite estimar la cantidad total y normalizada para las distintas producciones a partir de cuatro controles puntuales, previamente establecidos.

El presente trabajo presenta los resultados obtenidos por el método de Fleischman para los distintos componentes minerales de la leche de raza ovina Manchega y los compara con los de otro método que emplea 25 controles a lo largo de la lactación para estudiar si existen diferencias significativas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El control lechero de la raza ovina Manchega se basa en cuatro controles por lactación, con periodicidad mensual y posterior análisis cuantitativo y cualitativo de las muestras. La lactación se calcula por el método de Fleischman o de datos centrado (Pérez-Guzmán y Hurtado, 1994).

En el presente trabajo se ha realizado un control exhaustivo, tomando hasta 25 muestras a lo largo de la lactación, ya que se pretendía disponer de suficientes datos que permitieran trazar las curvas de lactación con una alta precisión, haciendo mayor incidencia en las zonas de cambio de pendiente de la curva de lactación.

Los controles fueron cuantitativos, en producción de mañana, y cualitativos. Se realizaron 4 controles anteriores al destete, 5 en la semana del destete, 1 a la siguiente semana, 4 controles quincenales y, a partir del día 120, tres controles semanales hasta el secado de los animales, que se realizó de manera individualizada y cuando la producción era inferior a 200 mL en el control de mañana (Real Decreto 1293/1997).

Las muestras de leche se tomaron sin conservante, por lo que su procesado se hizo el mismo día de la recogida. Éstas se mineralizaron por el método propuesto por Vega y Sánchez (2001) y se analizaron mediante los métodos de espectrofotometría ultravioleta-visible y espectrofotometría de absorción y de emisión atómica descritos por Vega y Sánchez (2004).

Se registraron las curvas de calibrado diariamente utilizando disoluciones de Titrisol de concentración conocida. Se obtuvieron los patrones de trabajo por dilución de las disoluciones madre hasta intervalos de concentración similares a los esperados en las muestras. Cada curva patrón de trabajo se elaboró con al menos cinco patrones, utilizándose como blanco una disolución de igual composición a cada patrón. En el caso del Fe las interferencias no pudieron eliminarse por adición de ningún modificador de matriz y se optó por trabajar con un calibrado de adiciones patrón.

Con los datos de los días número 43, 71, 99 y 120 (aproximadamente un muestreo cada 30 días contados a partir del décimo día posterior al destete) se realizó la normalización de Fleischman para un control tipo A simplificado.

Para comparar los dos métodos se utiliza la prueba *t* por parejas sobre el valor de cantidad total de cada componente.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 presenta los rendimientos obtenidos en los distintos días de control para las cenizas y los minerales considerados. Se observa que todos ellos presentan una tendencia ascendente a medida que avanza la lactación, a excepción del potasio y el cobre, cuyos niveles descienden.

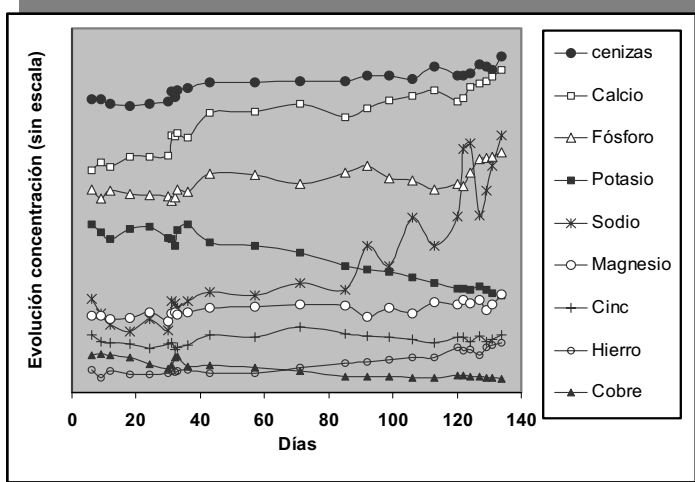


Figura 1. Evolución de la concentración de los componentes minerales estudiados en la leche de oveja Manchega

En la figura 2 se representa la evolución de las cantidades totales producidas de cada componente, se observa que en todos los casos sigue una tendencia decreciente con un mínimo más o menos pronunciado en el destete.

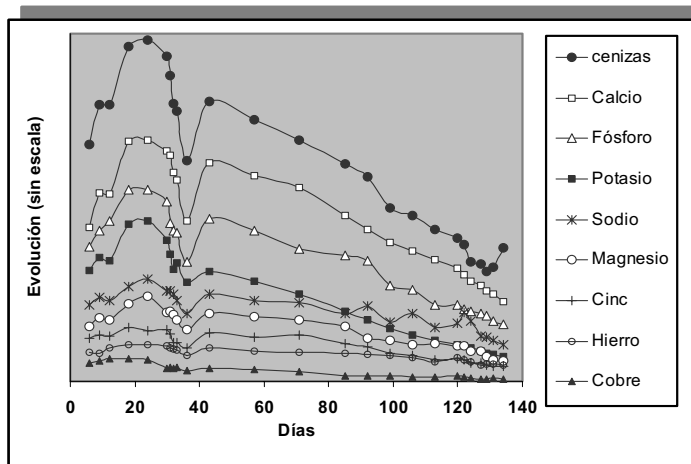


Figura 2. Evolución de la cantidad de los componentes minerales estudiados en la leche de oveja Manchega

Al comparar los resultados de producción obtenidos por ambos métodos, el de Fleischman y el experimental basado en 25 controles, vemos que no existen diferencias significativas, excepto para el caso del cobre y del potasio. Los resultados de los valores medios obtenidos y de la prueba t por parejas se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1. Valores medios y prueba t por parejas para la normalización de Fleischman y el muestreo experimental**

<b>Parámetro</b>	<b>Media experimental</b>	<b>Media Fleischman</b>	<b> t </b>
Cenizas	0,913 %	0,925 %	0,48
Calcio	1.848 ppm	1.941 ppm	1,62
Cinc	7,7 ppm	8,1 ppm	1,13
Cobre	0,27 ppm	0,24 ppm	<b>4,22</b>
Fósforo	1.349 ppm	1.369 ppm	0,16
Hierro	1,49 ppm	1,50 ppm	1,42
Magnesio	143 ppm	146 ppm	0,46
Potasio	1.045 ppm	1.009 ppm	<b>2,37</b>
Sodio	466 ppm	485 ppm	1,09

**Para 8 grados de libertad y P = 0,05 t debe ser menor de 2,31. (Miller y Miller. 1993)**

El método de Fleischman es adecuado para estimar los rendimientos por lactación para los componentes minerales de la leche de oveja Manchega a excepción del cobre y del potasio, que son los únicos componentes cuya concentración disminuye lentamente a partir del destete, una posible explicación consiste en que con el método de Fleischman se comete el error de no considerar el mínimo producido por el destete al principio de la curva, que se compensa al final considerando 14 días más de producción con el mismo volumen del último muestreo. En el caso del cobre y del potasio estos errores se suman al descender, en lugar de aumentar, la concentración a partir del destete.

Sería de interés buscar métodos alternativos que se ajusten mejor a la evolución del cobre y del potasio a lo largo de la lactación.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

- Miller J C, y Miller J N. (1993). Estadística para Química Analítica. 2ª edición. Ed. Addison-Wesley Iberoamericana.
- Pérez-Guzmán M D y Hurtado E. (1994). Control de producciones en la raza ovina Manchega. Ganado ovino Raza Manchega: 345-353. Ediciones Mundi-Prensa.
- Real Decreto 1293/1997 de 18 de julio por el que se regula el control de los rendimientos lecheros para la evaluación genética de las hembras de las especies bovina, ovina y caprina de raza pura para reproducción.
- Vega O, Sánchez P J y Donado-Mazarrón E. (2004). Puesta a punto de un método de análisis de Ca, Cu, P, Fe, Mg, K, Na y Zn en suero de leche de oveja, mediante AAS. Cálculo del coeficiente de reparto entre suero y cuajada. Universidad Abierta. Nº 25.
- Vega O, Sánchez P J y Sánchez G. (2001). Tratamiento de matrices lácteas para la determinación de metales por absorción atómica. Optimización de un método por vía húmeda. Universidad Abierta. Nº 23.



## EFFECTOS DE LA DURACIÓN DEL SECADO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y LOS ÍNDICES DE MUERTE Y PROLIFERACIÓN CELULAR EN CABRAS LECHERAS<sup>1</sup>

A.A.K. Salama, G. Caja, X. Such, R. Casals y E. Albanell

Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

Durante el periodo de secado tienen lugar tres fases fisiológicas en la ubre (involución, reposo y regeneración) cuyo resultado es la renovación del tejido mamario. La duración del secado en las vacas lecheras ha merecido especial atención recientemente, indicándose que si bien es posible acortarlo a 28 d (Grummer y Rastani, 2003; Rastani et al., 2003), la omisión del secado tiene un efecto negativo sobre la producción de leche en la siguiente lactación (Swanson, 1965; Remond et al., 1992; Rastani et al., 2003). En cabras lecheras, Fowler et al. (1991) evaluaron el efecto del secado mediante un diseño en medias ubres, e indicaron la ausencia de pérdidas de producción cuando no se realiza un período de secado antes del parto.

La muerte programada (apoptosis) y la proliferación celular son dos procesos que ocurren continuamente en la glándula mamaria durante la lactación, resultando en una considerable renovación de lactocitos. Ambos ritmos de muerte y proliferación varían con la inyección de GH, el estado de lactación, la frecuencia de ordeño y la nutrición, entre otros factores (Capuco et al., 2001; Hale et al., 2003; Colitti et al., 2005). Se desconoce todavía si la duración del secado puede afectar a la dinámica celular de la ubre en la siguiente lactación.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de la duración del período de secado sobre la producción de leche y los ritmos de apoptosis y proliferación celular, en la siguiente lactación, en cabras lecheras.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 17 cabras múltiparas de raza Murciano-Granadina que fueron cubiertas, por monta natural con efecto macho, a los 210 d de lactación. Ocho semanas antes de la fecha esperada del parto, se dividieron en dos grupos experimentales según el tratamiento de secado seguido: Secado durante 56 d (**S56**; n = 9) y sin secado (**S0**; n = 8). Cinco cabras del grupo S0 se secaron espontáneamente a los  $27 \pm 3.8$  d antes del parto y fueron consideradas como un grupo a parte (**S27**). Las cabras, pertenecientes al rebaño experimental del S1GCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB, se mantuvieron en condiciones semi-intensivas, con pastoreo en praderas de secano (6 h/d) y suplementación en la cabreriza con una mezcla de alfalfa-maíz deshidratados (1:1) ad libitum, 0.5 kg de granulada alfalfa y 0.5-1.0 kg/d de concentrado (0.9 UFL/kg, 18% PB) según el estado de lactación. El ordeño se realizó una vez al día (9 a.m.) en una sala 2 x 12 (Westfalia Landtechnik, Granollers) a 42 kPa, 90 p/min y 60:40. El experimento duró dos lactaciones, presentándose aquí los datos hasta la semana 30 de la 2ª lactación.

<sup>1</sup> Trabajo incluido en el proyecto CICYT: AGL2002-03472.

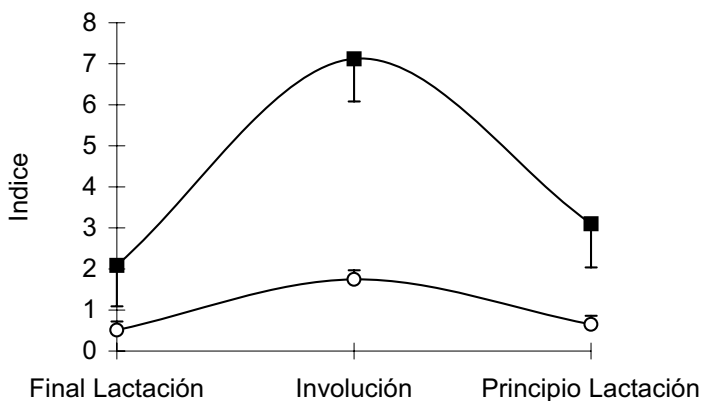
La producción de leche se controló semanalmente durante las lactaciones anterior y posterior al secado. Después de una aplicación de anestesia local (1 ml, Bupivacaína Inyec. 5.50%, Braun Medical, Barcelona), se realizaron biopsias de ubre mediante agujas automáticas de calibre 14 (Bard Max·Core, Covington, Georgia, USA), en 3 fechas:  $280 \pm 1.6$  d de la lactación anterior, 7 d después del secado (grupo S56 sólo) y  $49 \pm 1.1$  d en la lactación posterior, de acuerdo con el protocolo de la Comisión de Ética en Experimentación Animal y Humana de la UAB (Ref.: CEEAH 400/02). La apoptosis y la proliferación se analizaron inmunohistoquímicamente mediante análisis TUNEL (ApopTag, Serologicals Co., Norcross, Georgia, USA) y PCNA (BioGenex, San Ramón, California, USA), respectivamente. Los datos fueron analizados con el PROC MIXED de SAS v. 8.2 (SAS Inst., Cary, N. Carolina, USA) para medidas repetidas. El modelo estadístico incluyó los efectos del tratamiento, semana de lactación y las interacciones de primer orden.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque la producción de leche en la lactación (300 d) usada como referencia antes del secado, no varió entre los distintos grupos experimentales (S56, 1.98; S27, 1.88; y S0, 1.84 L/d;  $P > 0.05$ ), en los primeros 210 d de la siguiente lactación S0 produjo menos leche (1.66 L/d;  $P < 0.05$ ) que S56 (2.32 L/d) y S27 (2.45 L/d). Este resultado indica un efecto negativo de la omisión del secado en cabras lecheras, contrariamente a lo concluido por Fowler et al. (1991) en cabras lecheras, pero de acuerdo con lo observado en vacuno (Swanson, 1965; Remond et al., 1992; Rastani et al., 2003). Por otro lado, no se observaron diferencias de producción entre S27 y S56, lo que significa que 27 d de secado pueden considerarse suficientes para no afectar la siguiente lactación, en cabras lecheras. Este resultado concuerda con lo observado por Bachman (2002) y Gulay et al. (2003) en vacas lecheras, donde no se produjeron efectos negativos con un secado de 30 d.

Respecto a las biopsias mamarias en el grupo S56, se observó un aumento en la apoptosis (0.51 a 1.75%;  $P < 0.06$ ) y proliferación (2.09 a 7.12 %  $P < 0.05$ ) del tejido mamario entre el d 280 (final de lactación) y el d 7 después del secado (involución), (Figura 1). Los índices de apoptosis y proliferación en la semana 7 de la lactación siguiente en S56 fueron similares a los detectados al final de lactación anterior.

**Figura 1.** Índices de apoptosis (○) y proliferación (■) en la ubre de cabras lecheras secadas durante 56 d.



**Tabla 1.** Efectos de la duración del secado sobre el número de lactocitos por alvéolo y los índices de apoptosis y proliferación a los 49 d lactación<sup>1</sup> en cabras lecheras.

Ítem	Duración del secado (d)			SEM
	56	27	0	
n	3	3	3	-
Leche, L/d	2.53 <sup>a</sup>	2.68 <sup>a</sup>	1.73 <sup>b</sup>	0.28
Número lactocitos / alvéolo	38.6	36.3	24.1	7.8
Apoptosis, %	0.71	0.68	0.65	0.32
Proliferación, %	2.95	1.37	2.48	1.22

<sup>1</sup> en la siguiente lactación; <sup>a,b</sup> letras diferentes en la misma fila indican diferencias a  $P < 0.05$ .

Estos resultados indican la el marcado efecto del secado en la renovación de células viejas de acuerdo con lo observado por Capuco et al. (1997) en vacas.

A la lactación siguiente (49 d; **Tabla 1**), el número de lactocitos por alvéolo fue mayor en S56 ( $P = 0.14$ ) y S27 ( $P = 0.19$ ) que en S0, de acuerdo con sus niveles de producción de leche. La producción de leche se correlacionó con el número de células por alvéolo ( $r = 0.81$ ;  $P < 0.05$ ). No se observaron diferencias significativas entre grupos en los índices de apoptosis o proliferación, indicando que la duración del secado no afectó la dinámica celular en la siguiente lactación.

Sin embargo, el proceso de regeneración celular pudo haberse afectado negativamente en S0 ya que estas cabras empezaron la siguiente lactación con un menor número de lactocitos ( $P < 0.20$ ). Annen et al. (2004), en vacas primíparas, observaron que la proliferación celular 7 d antes del parto fue mayor con un secado de 60 d que sin secado. Así mismo, no detectaron diferencias en la proliferación celular a los 2, 7 y 20 d después del parto, indicando que la pérdida de producción en las vacas sin secado se debe a la reducción en la proliferación antes del parto.

En conclusión, omitir el secado en cabras lecheras perjudica la producción de leche en la siguiente lactación, debido posiblemente a una insuficiente regeneración celular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Annen E.L., Fitzgerald A.C., Gentry P.C. & Collier R.J. 2004. *J. Dairy Sci.* 87(Suppl.1):132(Abstr.).
- Bachman K.C. 2002. *J. Dairy Sci.* 85:797-803.
- Capuco A.V., Akers R.M. & Smith J.J. 1997. *J. Dairy Sci.* 80:477-487.
- Capuco A.V., Wood D.L., Baldwin R., Mcleod K. & Paape M.J. 2001. *J. Dairy Sci.* 84:2177-2187.
- Colitti M., Stradaoli G. & Stefanon B. 2005. *Res. Vet. Sci.* 78:53-59.
- Fowler P.A., Knight C.H. & Foster M.A. 1991. *J. Dairy Res.* 58:13-19.
- Grummer R.R. & Rastani R.R. 2003. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl. 1):153(Abstr.)
- Gulay M.S., Hayen M.J., Bachman K.C., Belloso T., Liboni M. & Head H.H. 2003. *J. Dairy Sci.* 86:2030-2038.
- Hale S.A., Capuco A.V. & Erdman R.A. 2003. *J. Dairy Sci.* 86:2061-2071.
- Rastani R.R., Grummer R.R., Bertics S.J., Gumen A., Wiltbank M.C., Mashek D.G. & Rich M.C. 2003. *J. Dairy Sci.* 86 (Suppl.1):154 (Abstr.).
- Remond B., Ollier A. & Miranda G. 1992. *J. Dairy Res.* 59:233-241.
- Sorenson J.T. & Enevoldsen C. 1991. *J. Dairy Sci.* 74:1277-1283.
- Swanson E.W. 1965. *J. Dairy Sci.* 48:1205-1209.

## EFFECTOS DE LA GESTACIÓN Y LA LACTACIÓN EXTENDIDA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN CABRAS MURCIANO-GRANADINAS<sup>1</sup>

A.A.K. Salama, G. Caja, X. Such, E. Albanell y R. Casals

Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que la gestación disminuye la producción de leche y aumenta los contenidos en grasa y proteína en vacas lecheras como consecuencia de los cambios hormonales y el aumento de necesidades debidos al feto (Bachman et al., 1988; Bell et al., 1995). Estos cambios son especialmente apreciables durante su último tercio (Olori et al., 1997). De forma semejante, el único trabajo publicado sobre los efectos de la gestación en la producción de leche de cabras lecheras (Knight y Wilde, 1988), indica una reducción de la producción de leche a partir de la 9ª semana de gestación, en cabras cubiertas en el pico de lactación. Sin embargo, no existe información disponible sobre los efectos de la gestación en la composición de leche, así como tampoco sobre los efectos directos producidos por la coincidencia del final de gestación y el final de lactación en la producción de leche del caprino.

Por otro lado Linzell (1973) indicó que cabras vacías (no gestantes), son capaces de mantener lactaciones extendidas durante 2 a 4 años, en condiciones de 2 ordeños al día, aunque se desconocen los efectos sobre la cantidad y calidad de leche en comparación con cabras mantenidas en lactaciones normales de 10 meses.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del intervalo entre partos sobre la producción de leche en cabras, evaluando el efecto específico del final de gestación sobre la lactación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 cabras múltiparas de raza Murciano-Granadina, paridas en octubre de 2002, pertenecientes al rebaño experimental del S1GCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB en Bellaterra. Las cabras se dividieron en dos grupos equilibrados en la semana 29 de lactación que fueron aleatoriamente asignados a los tratamientos experimentales para conseguir: 1) lactación convencional, con un intervalo entre partos de 12 meses (**L12**; n = 16); y lactación extendida con un intervalo entre partos de 24 meses (**L24**; n = 14). Así, durante un periodo experimental de aproximadamente 2 años, las cabras L12 fueron cubiertas en la semana 29 (monta natural dirigida y con efecto macho) y realizaron 2 lactaciones (semanas 1-42 y 51-92), mientras que las cabras L24 realizaron una única lactación extendida (semana 1-92). La evaluación de los efectos de la gestación se realizó por comparación de los grupos L12 (gestantes) y L24 (vacías) en las semanas 30-42 de lactación. Todas las cabras volvieron a ser cubiertas con efecto macho a la semana 79 (monta natural dirigida).

Las cabras se mantuvieron en condiciones de explotación semi-intensiva, con pastoreo en praderas de secano (6 h/d) y suplementación en la cabreriza con una

---

<sup>1</sup> Trabajo incluido en el proyecto CICYT: AGL2002-03472.

mezcla de alfalfa-maíz deshidratados (1:1) ad libitum, 0.5 kg de granulado de alfalfa y 0.5-1.0 kg/d de concentrado (0.9 UFL/kg, 18% PB) según el estado de lactación. El ordeño se realizó una vez al día (9 a.m.) en una sala 2 x 12 (Westfalia Landtechnik, Granollers) a 42 kPa, 90 p/min y 60:40.

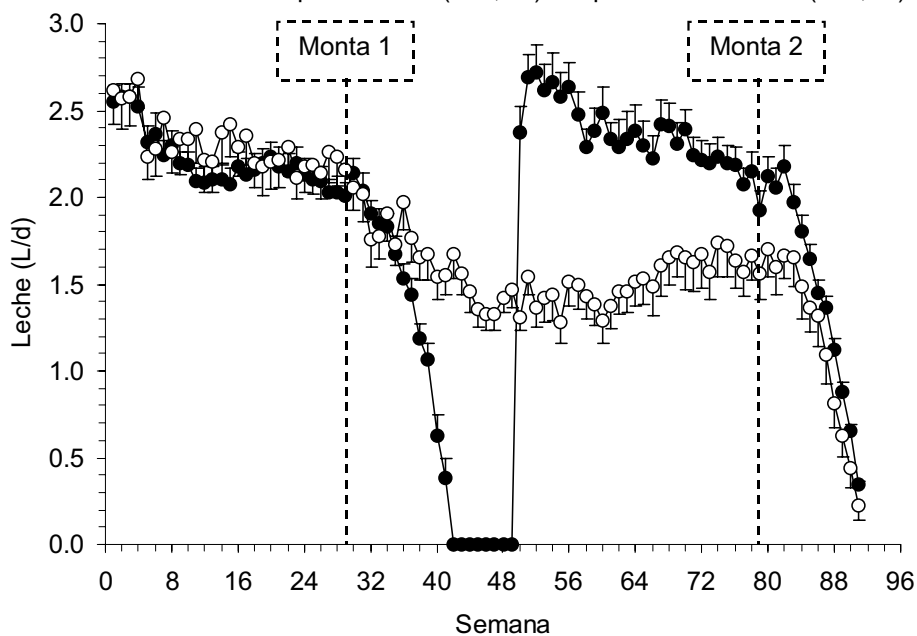
La producción de leche se controló semanalmente durante toda la experiencia. Para el análisis de la composición de leche y recuento de células somáticas (RCS), se recogieron muestras de leche quincenales (semanas 29 a 41) y mensuales (semanas 43 a 92). La composición de la leche (grasa, proteína y lactosa) y el RCS se analizaron mediante un equipo de infrarrojos y un contador automatizado de células somáticas (MilkoScan 4000 y Fossomatic 5000, Foss-Electric, Hillerød, Dinamarca).

Los datos fueron analizados con el PROC MIXED de SAS (v. 8.2) para medidas repetidas. El modelo incluyó los efectos del tratamiento, semana de lactación y las interacciones de primer orden.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de la gestación y del intervalo entre partos en la producción de leche se muestran en la **Figura 1**. La producción de leche antes de la cubrición (semanas 2-29) y durante las 7 primeras semanas de gestación (semanas 30-36) fue similar en ambos grupos de cabras (2.19 L/d;  $P > 0.05$ ). Sin embargo, la producción de leche de L12 tendió a ser menor que en L24 a las semanas 8 (1.52 vs. 1.80 L/d;  $P < 0.07$ ) y 9 (1.38 vs. 1.65 L/d;  $P < 0.12$ ) de gestación. El efecto de la gestación fue significativo ( $P < 0.05$ ) a partir la semana 10 de gestación, siendo la diferencia entre L12 y L24 de -0.32, -0.51, -0.85 y -1.11 L/d, a las semanas 10, 11, 12 y 13 de gestación, respectivamente. Entre las semanas 43-50, las cabras L12 se secaron, mientras que las cabras L24 continuaron en lactación y produjeron 1.53 L/d.

**Figura 1.** Comparación de las curvas de lactación de cabras lecheras Murciano-Granadinas sometidas a 1 parto al año (L12, ●) ó 1 parto cada 2 años (L24, ○).



A partir de la semana 51 las cabras de L12 entraron de nuevo en lactación. Según Knight y Wilde (1988) el ritmo de disminución de la producción de leche fue similar entre cabras gestantes y no gestantes durante las 8 primeras semanas de gestación, aunque la pendiente de disminución se duplicó en las gestantes al avanzar la gestación y se mantuvo constante en las cabras no gestantes.

El efecto negativo de la gestación sobre la producción de leche puede ser atribuido a un efecto directo del aumento de la concentración de estrógenos en sangre al avanzar la gestación, inhibiendo la secreción de leche (Bachman et al., 1988), así como a un efecto indirecto del aumento de las necesidades nutritivas de los fetos (Knight y Wilde, 1988). En particular debe señalarse la competencia en glucosa y aminoácidos de la placenta y la ubre.

Durante las 92 semanas experimentales, las cabras L24 produjeron 98 L de leche menos que las cabras L12, pero esta diferencia no fue significativa (-8.2%;  $P > 0.05$ ). Esto indica que, en la práctica, cuando las cabras Murciano-Granadina no quedan preñadas en un ciclo productivo, pueden realizar lactaciones extendidas sin sufrir una pérdida significativa de producción de leche. Este resultado concuerda con lo obtenido en vacas lecheras, en las que no se han detectado pérdidas significativas de leche al aumentar el intervalo entre partos de 12 a 14 meses (Arbel et al., 2001) o a 16 meses (Osterman y Bertilsson, 2003).

Respecto a la composición de leche, las diferencias entre tratamientos solo se detectaron a partir de la semana 12 de gestación (semana 41 de lactación) donde la leche de L12 presentó mas grasa (4.33 vs. 3.89%;  $P < 0.10$ ) y proteína (4.91 vs. 3.38%;  $P < 0.05$ ), pero menos lactosa (3.41 vs. 4.09%;  $P < 0.05$ ) que en L24.

Al contrario, durante las primeras 29 semanas (semanas 51 a 79) de la siguiente lactación, la leche de L12 presentó menos grasa (4.72 vs. 5.37%) y proteína (3.45 vs. 3.81%) que la leche de L24, lo que puede ser debido a un efecto de dilución ya que estas cabras produjeron mas leche que las cabras L24 (Figura 1). Además, el balance energético negativo al principio de lactación en cabras L12 podría haber sido responsable de una baja menor producción de proteína en leche, tal como se ha descrito en vacas lecheras (Remond et al., 1992). No se observaron diferencias entre grupos en lactosa o RCS desde la semana 51 hasta 79.

Durante la gestación en la siguiente lactación (semanas 80 a 92), los contenidos de grasa, proteína, lactosa y RCS en leche no variaron entre grupos, siendo sus valores en promedio de 4.85%, 3.97%, 4.13% y 6.32, respectivamente.

En conclusión, las cabras Murciano-Granadinas sometidas a un ordeño diario, presentan un marcado efecto negativo de la gestación sobre la lactación. Sin embargo, en estas mismas condiciones, pueden producir leche durante 2 años consecutivos sin pérdidas significativas en la producción y composición, en comparación con las cabras que tienen un parto cada año.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arbel R., Bigun Y., Ezra E., Sturman H. & Hojman D. 2001. *J. Dairy Sci.* 84:600-608.  
Bachman K.C., Hayen M.J., Morse D. & Wilcox C.J. 1988. *J. Dairy Sci.* 71:925-931.  
Bell A.W., Slepatis R. & Ehrhardt R.A. 1995. *J. Dairy Sci.* 78:1954-1961.  
Knight C.H. & Wilde C. J. 1988. *J. Dairy Res.* 55:487-493.  
Linzell, J.L. 1973. *J. Physiol.* 230:225-233.  
Olori V.E., Brotherstone S., Hill W.G., & McGuirk B.J. 1995. *Livest. Prod. Sci.* 52:167-176.  
Osterman S. & Bertilsson J. 2003. *Livest. Prod. Sci.* 82:139-149.

## EFFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN ANTES DE LA PUBERTAD SOBRE LA VIDA PRODUCTIVA DE OVEJAS LECHERAS DE RAZA MANCHEGA Y LACAUNE

A. Zidi<sup>1</sup>, M. Ayadi, G. Caja, X. Such, J.J. Ghirardi, E. Albanell

Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

La alimentación de las hembras de reposición puede ser un factor que determine sus futuros rendimientos productivos. En general se considera que la alimentación en torno de la pubertad resulta clave para asegurar una larga y eficiente vida productiva en las especies ganaderas. Así, estudios realizados en terneras lecheras indican efectos negativos permanentes (10 a 25%) de altas velocidades de crecimiento durante la recría (Sejrsen y Purup, 1997). En ovino lechero, en el que la recría se mantiene en cebadero hasta los 30 kg PV, todo parece indicar que el plan de alimentación no es adecuado para el desarrollo de la ubre (Caja et al., 2000), ya que su crecimiento es alométrico a los 3-4 meses de edad (Jonson y Hart, 1985).

Ayadi et al. (2002) realizaron un estudio previo sobre el efecto de la alimentación en corderas de raza Manchega (**Mn**) y Lacaune (**Lc**), en el que se vieron efectos positivos del crecimiento moderado antes de la pubertad en la producción de leche de la 1ª lactación en Mn, pero no en Lc. El objetivo de este trabajo es evaluar los efectos a largo plazo de la alimentación durante la recría de corderas de Mn y Lc.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 57 corderas lecheras (Mn, n = 35; Lc, n = 22), nacidas durante el invierno de 2000-01 en el rebaño experimental del S1GCE (Servei de Granges y Camps Experimentals) de la UAB (Ayadi et al., 2002). A partir del destete (35 d), las corderas fueron asignadas a dos grupos a los que se aplicaron distintos planes de alimentación (7-22 semanas) para conseguir ganancias de peso altas (**A**, 280 g/d), a base de pienso y paja ad libitum, y medias (**M**, 180 g/d) utilizando pienso racionado y alfalfa ad libitum. A las 22 semanas, el lote A se unió al rebaño de ordeño en pastoreo y las del M se sometieron a crecimiento compensador para maximizar el peso a la cubrición. La pubertad fue detectada mediante moruecos vasectomizados y las corderas cubiertas a partir del 2º celo detectado. El control de producciones (leche, PV y condición corporal) y seguimiento de los animales (parto, causas de baja o eliminación, etc.) se llevó a cabo en 4 lactaciones. Al destete (semana 5), las ovejas se ordeñaron (2 veces/d) en una sala (Westfalia Landtechnik, Granollers) a 42 kPa, 120 ppm y 50%. La producción de leche se controló semanalmente hasta la semana 23. Durante la cría, la producción se estimó cada semana mediante la técnica de doble ordeño con 2 UI oxitocina (Doney et al., 1979). Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento MIXED de SAS v. 8.2.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento hasta la pubertad se han resumido en la **Tabla 1**, en la que se observa que entre las semanas 7-22 fue menor en las corderas Mn que Lc, de acuerdo con su potencial de crecimiento y engrasamiento, aunque la diferencia sólo fue significativa en el lote A ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 1.** Crecimiento de corderas hasta la pubertad según el nivel de alimentación.

Item	Lc (Lacaune)		Mn (Manchega)	
	A (Alto)	M (Medio)	A (Alto)	M (Medio)
n	12	10	18	17
Peso al nacimiento, kg	3.9 ± 0.2 <sup>b</sup>	3.8 ± 0.3 <sup>b</sup>	4.3 ± 0.1 <sup>a</sup>	4.2 ± 0.2 <sup>a</sup>
Crecimiento 7-22 semanas, g/d	293 ± 11 <sup>a</sup>	189 ± 13 <sup>c</sup>	254 ± 9 <sup>b</sup>	164 ± 7 <sup>c</sup>
Peso a la pubertad, kg	62.5 ± 2.9 <sup>a</sup>	53.9 ± 1.6 <sup>b</sup>	54.0 ± 1.8 <sup>b</sup>	46.3 ± 1.3 <sup>c</sup>
Edad a la pubertad, d	217 ± 5 <sup>c</sup>	238 ± 6 <sup>b</sup>	245 ± 9 <sup>ab</sup>	280 ± 12 <sup>a</sup>
Espesor grasa dorsal <sup>1</sup> , mm	3.6 ± 0.3 <sup>a</sup>	2.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.1 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> medido a las 38-40 sem. de edad; <sup>a, b, c</sup> letras distintas en la misma fila indican diferencias a  $P < 0.05$

La edad para llegar a la pubertad fue menor en las corderas Lc del lote A y mayor en las Mn del lote M, de acuerdo con su peso. Los resultados reproductivos a la 1<sup>a</sup> cubrición fueron ligeramente superiores en A respecto a M en ambas razas (**Tablas 2 y 3**), de acuerdo con su mayor peso, aunque las diferencias no fueron significativas. El peso de las ovejas y de los corderos al parto tendieron a verse influidos en el 1<sup>er</sup> parto ( $P < 0.15$ ), pero no en los siguientes. No se apreciaron diferencias en fertilidad y prolificidad en el total de la vida reproductiva, si se exceptúan los resultados del 3er año en Mn. Respecto a la producción de leche (**Figura 1**), sólo se observaron diferencias entre A y M en el caso de las ovejas Mn, siendo superior la producción de leche en su 1<sup>a</sup> lactación (+56 L,  $P < 0.05$ ) y mostrando una tendencia en la segunda lactación (+38 L;  $P < 0.15$ ). La dispersión de los datos aumentó con el número de lactación, haciendo difícil la comparación posterior. En las Lc no se observaron diferencias de producción de leche según el tipo de recria. Los resultados de leche se ven reforzados por el estudio de causas de baja. Así, mientras que en las Lc sólo se eliminó una oveja (5%) por problemas de producción, en las Mn se eliminaron un 33% y 18% en A y M, respectivamente. En las Lc, la principal causa de baja fue la mamitis (36%), frente a un 6% en Mn.

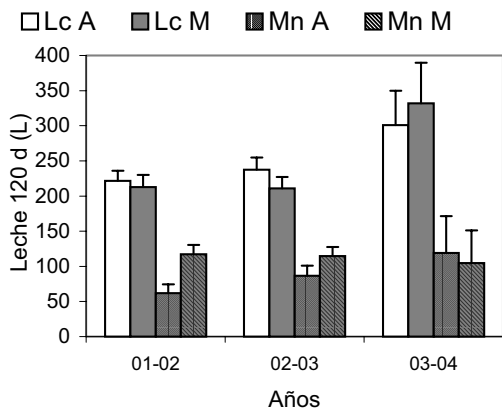
**Tabla 2.** Productividad de ovejas Manchegas según la alimentación pre-pubertad.

Item	A (Alta)					M (Media)				
	1	2	3	4	Total	1	2	3	4	Total
Ovejas										
Presentes	18	18	9	7	<b>52</b>	17	14	9	7	<b>47</b>
Productividad	-	-	-	-	<b>72.2%</b>	-	-	-	-	<b>69.1%</b>
Fertilidad, %	61.1	77.8	55.6	71.5	<b>66.5</b>	52.9	100	77.8	100	<b>82.7</b>
Prolificidad	1.09	1.43	1.75	1.80	<b>1.52</b>	1.11	1.07	1.33	1.83	<b>1.34</b>
Peso parto, kg	62.5	71.7	-	74.1	<b>69.43</b>	61.2	68.5	-	75.9	<b>68.5</b>
	±1.9	±2.4	-	4.14	<b>±6.13</b>	1.67	2.06	-	3.65	<b>±4.25</b>
CC al parto	2.80	2.90	-	3.00	<b>2.9</b>	2.7	2.9	-	2.9	<b>2.84</b>
	±0.05	±0.11	-	±0.08	<b>±0.07</b>	0.06	0.15	-	0.21	<b>±0.04</b>
PN corderos, kg	4.78	4.61	4.10	4.56	<b>4.51</b>	4.28	4.82	3.97	4.07	<b>4.28</b>
	±0.16	±0.17	±0.15	±0.19	<b>±0.15</b>	±0.33	±0.14	±0.19	±0.30	<b>±0.19</b>
Prod. leche, L										
Cría-28 d	46 <sup>b</sup>	65 <sup>a</sup>	61 <sup>a</sup>	-	<b>57</b>	47 <sup>b</sup>	69 <sup>a</sup>	62 <sup>a</sup>	-	<b>59</b>
	±1	±10	±14	-	<b>±9</b>	±1	±5	±6	-	<b>±4</b>
Ordeño-120 d	62 <sup>c</sup>	87 <sup>bc</sup>	119 <sup>ab</sup>	-	<b>89</b>	117 <sup>b</sup>	115 <sup>a</sup>	105 <sup>a</sup>	-	<b>112</b>
	±12	±14	±53	-	<b>±17</b>	±13	±13	±47	-	<b>±16</b>
Causas de baja:										
Producción	0	5	1	0	<b>6</b>	1	1	1	0	<b>3</b>
Prolapso rectal	0	1	0	0	<b>1</b>	0	2	0	0	<b>2</b>
Mamitis	0	0	1	0	<b>1</b>	1	0	0	0	<b>1</b>
Fertilidad	0	1	0	0	<b>1</b>	1	0	1	0	<b>2</b>
Mortalidad	0	0	0	0	<b>0</b>	1	2	0	0	<b>3</b>



**Tabla 3:** Datos de corderas Lacaune según la alimentación pre-pubertad.

Item	A (Alto)				Total	M (Medio)				Total
	1	2	3	4		1	2	3	4	
Ovejas										
Presentes	12	9	8	8	<b>37</b>	10	10	4	3	<b>27</b>
Productividad	-	-	-	-	<b>77.1%</b>	-	-	-	-	<b>55.0%</b>
Fertilidad,%	58.3	100	87.5	87.5	<b>83.3</b>	50.0	100	100	100	<b>87.5</b>
Prolificidad	1.14	1.25	1.86	1.71	<b>1.49</b>	1.25	1.44	1.25	2.00	<b>1.49</b>
Peso parto, kg	70.7	79.7	-	80.8	<b>77.1</b>	67.8	76.6	-	75.1	<b>68.5</b>
	±2.6	±4.3	-	±4.1	<b>±3.2</b>	±2.1	±1.97	-	±4.6	<b>±2.71</b>
CC al parto	2.90	2.70	-	2.80	<b>2.97</b>	2.90	2.80	-	2.90	<b>2.84</b>
	±0.05	±0.17	-	±0.17	<b>±0.06</b>	±0.06	±0.08	-	±0.30	<b>±0.04</b>
PN corderos, kg	4.08	4.39	3.76	4.19	<b>4.10</b>	4.24	3.85	4.30	3.64	<b>4.28</b>
	±0.26	±0.15	±0.12	±0.14	<b>±0.13</b>	±0.26	±0.15	±0.48	±0.37	<b>±0.15</b>
Prod. leche, L										
Cría-28 d	69 <sup>b</sup>	102 <sup>a</sup>	96 <sup>a</sup>	-	<b>89</b>	74 <sup>b</sup>	93 <sup>a</sup>	88 <sup>a</sup>	-	<b>59</b>
	±1	±21	±6	-	<b>±11</b>	±2	±5	±12	-	<b>±10</b>
Ordeño-120 d	221 <sup>b</sup>	238 <sup>b</sup>	301 <sup>ab</sup>	-	<b>253</b>	213 <sup>b</sup>	211 <sup>b</sup>	332 <sup>a</sup>	-	<b>252</b>
	±15	±17	±49	-	<b>±17</b>	±17	±16	±58	-	<b>±21</b>
Causas baja:										
Producción	0	0	0	0	<b>0</b>	0	1	0	0	<b>1</b>
Prolapso rectal	0	0	0	0	<b>0</b>	0	0	0	0	<b>0</b>
Mamitis	1	1	0	1	<b>3</b>	0	3	1	1	<b>5</b>
Fertilidad	1	0	0	0	<b>1</b>	0	1	0	0	<b>1</b>
Mortalidad	0	0	0	0	<b>0</b>	0	1	0	0	<b>1</b>

**Figura 1.** Producción de leche en la vida productiva de ovejas Lacaune y Manchega (Media ± ES).

Como conclusión, el nivel de alimentación antes de la pubertad (7-22 semanas) afectó de forma distinta a la glándula mamaria de las corderas Mn y Lc, de acuerdo con su potencial de crecimiento. Un crecimiento elevado perjudicó a las Mn en sus dos primeras lactaciones, mientras que no se apreció un efecto negativo en las Lc. Sin embargo, los datos reproductivos a largo plazo y la duración de la vida productiva no se vieron afectados en ambas razas. Las principales causas de eliminación fueron la baja producción en el caso de las Mn y las mamitis en Lc.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayadi M., Caja G., Such X., Ghirardi J. 2002. XXVII Jornadas Científicas de la SEOC, 19-21 Septiembre, Valencia. pp. 127-135.
- Caja G., Such X., Rovai M. 2000. Proc. 6<sup>th</sup> Great Lakes Dairy Sheep Symp., Nov 2-4, Guelph, Ontario. pp. 17-40.
- Doney J.M., Peart J.N., Smith W.F., Louda F. 1979. J.Agric.Sci.(Camb.) 92:123-132.
- Johnsson I.D., Hart I.C. 1985. Anim. Prod. 41: 323-332.
- Sejrsen K., Purup S. 1997. J. Anim. Sci. 75: 828-835.

## **EFFECTOS DE UNO VERSUS DOS ORDEÑOS DIARIOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE DE OVEJAS DE RAZA MANCHEGA Y LACAUNE.**

V. Castillo, X. Such, G. Caja, R. Casals, E. Albanell.

Grup de Recerca en Remugants; Dpto. Ciencia Animal y de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. Edificio V, 08193. Bellaterra. España.

### **INTRODUCCIÓN**

El número diario de ordeños es un factor especialmente determinante en el nivel productivo de los rumiantes lecheros. En países como Australia, la práctica de un ordeño diario es utilizada en vacuno lechero tanto a principio de lactación, para reducir el estrés metabólico, como a final de lactación, para mejorar la calidad de vida del ganadero (Davis et al., 1999). En algunas regiones de España, esta misma práctica es realizada en caprino lechero, con el objetivo de conseguir más tiempo para la elaboración de quesos (Capote et al., 1999). Estudios realizados en las distintas especies de rumiantes lecheros han comparado la práctica de un ordeño al día frente a dos. En ovino se ha observado que ordeñar una vez al día provoca pérdidas de producción que oscilan entre el 15 y el 30% (Morag, 1968; Labussière et al., 1974b; Papachristoforou et al., 1982; Negrao et al., 2001; Nudda et al., 2002). En vacuno, las pérdidas productivas van de un 7 a un 50% (Claesson et al., 1959; Stelwagen et al., 1994) y en caprino lechero de un 6 a un 35% (Mocquot, 1978; Capote et al., 1999; Salama et al., 2003). Las grandes diferencias encontradas entre los distintos autores pueden deberse a la utilización de diferentes razas, estadios de lactación, niveles de producción, duración de la aplicación de la frecuencia de ordeño, y características individuales (Davis et al., 1999).

El objetivo de este trabajo fue estudiar en ovino lechero de raza Manchega (nivel medio de producción) y Lacaune (nivel alto de producción), los efectos de 1 ordeño al día vs. 2 ordeños, sobre la producción, la composición y la sanidad de la ubre.

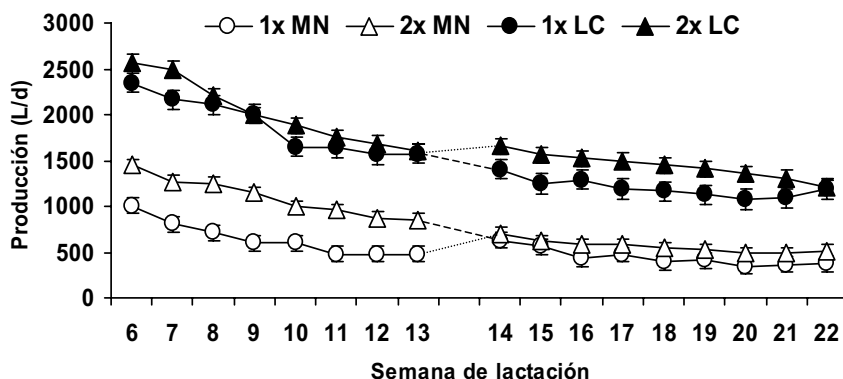
### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 60 ovejas, 32 de raza Manchega (MN) y 28 de raza Lacaune (LC), del rebaño experimental de la Universidad Autónoma de Barcelona, desde el momento del destete hasta el final de la lactación (semanas 4 a 22). Las ovejas se distribuyeron en tres lotes experimentales, en función de su producción de leche y del recuento de células somáticas (RCS): Lote **Control** (8 MN y 5 LC), sometido a dos ordeños diarios a lo largo de toda la lactación (07:00 y 19:00 h); Lote **1X-2X** (12 MN y 11 LC), con 1 ordeño al día (18:30 h) hasta la semana 13 de lactación, pasando posteriormente a 2 ordeños al día; Lote **2X-1X** (12 MN y 12 LC), con dos ordeños diarios al inicio de lactación y uno tras la semana 13. A lo largo de la experiencia, se realizaron controles de producción de leche (semanales), de composición química (quincenales), y de RCS (mensuales). La composición química (grasa y proteína bruta) de la leche total se determinó mediante un equipo NIR (Technicon InfraAnalyzer-450), según la metodología descrita por Albanell et al. (1999). El RCS se realizó mediante un contador automático (Fossomatic™ 5000, Foss-electric). Las semanas 7, 12, 16, y 20 se evaluaron las fracciones cisternal y alveolar de las ovejas experimentales, mediante la administración por vía i.v. de un antagonista de los receptores de oxitocina (Atosiban®, Ferring Lab., Sweden, 0.8 mg/oveja) y la posterior inyección por vía i.v. de 2 U.I. de oxitocina sintética (Oxiton®, Lab. Ovejero, León) para extraer la fracción de leche alveolar. El análisis estadístico se realizó con el PROC MIXED de medidas repetidas del SAS (versión 8.2).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestran los efectos de la frecuencia de ordeño (**x1** vs. **2x**) sobre la producción de leche semanal. A lo largo de la lactación, la frecuencia de ordeño tuvo un efecto significativo ( $P<0,05$ ) sobre la producción de leche, que disminuyó en los animales ordeñados una vez al día. Ahora bien, la respuesta de ambas razas a la frecuencia de ordeño aplicada fue distinta ( $P<0,01$ ). Durante el primer período (semanas 6 a 13), los animales de raza Manchega ordeñados una vez al día disminuyeron significativamente la producción de leche (-41%;  $P<0,001$ ), mientras que en los de raza Lacaune dicha disminución no fue significativa (-6%;  $P>0,05$ ). Las diferencias entre ambas razas se deben, probablemente, a la mayor capacidad de almacenamiento de leche de las ovejas de raza LC respecto a las MN, con un superior porcentaje de leche cisternal (77% vs. 63%, respectivamente;  $P<0,01$ ). En el segundo periodo experimental (semanas 14 a 22), y tras el cambio de tratamiento, las ovejas Manchega y Lacaune mostraron también una disminución significativa de la producción lechera ( $P< 0,05$ ) al pasar a ser ordeñadas una vez al día. Ahora bien, mientras que en las ovejas de raza Manchega la pérdida de producción (-21%;  $P< 0,01$ ) fue inferior a la del primer periodo experimental, en las ovejas Lacaune dicha pérdida fue superior (-17%;  $P< 0,01$ ). Este resultado parece indicar una mayor capacidad de recuperación de la producción lechera en las ovejas de raza Manchega al aumentar el número de ordeños diarios (+200 ml/día, +39%;  $P< 0,05$ ), en relación a las ovejas de raza Lacaune (+40 ml/día, +2%;  $P> 0,05$ ), mientras que la producción decrece en ambas razas al disminuir el número de ordeños, de forma más acusada en las MN que en las LC (-33% vs. -19%, respectivamente). Estos resultados reafirman la conclusión de que el tamaño cisternal está muy relacionado con las pérdidas y ganancias de producción al modificar la frecuencia de ordeño de los animales, y es un factor limitante a tener en consideración, sobretudo en las razas de pequeño tamaño cisternal.

Figura 1. Efecto de 1x vs 2x sobre la producción de leche semanal en ovejas de raza Manchega (MN) y Lacaune (LC)



La frecuencia de ordeño no tuvo efecto significativo sobre los principales componentes químicos de la leche en la raza Manchega. En la raza Lacaune se observó un aumento en la concentración de los componentes lácteos al disminuir la frecuencia de ordeño, tanto al inicio como al final de la lactación. La disminución de

la frecuencia de ordeño tampoco afectó significativamente ( $P>0,05$ ) al recuento de células somáticas en ninguna de las dos razas estudiadas (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la frecuencia de ordeño sobre la producción de leche, la composición química y el recuento de células somáticas en ovejas de raza Manchega (MN) y Lacaune (LC).

Variable	Inicio-mitad lactación (semana 6 -13)			Mitad-final lactación (semana 14 -22)		
	1x	2x	<i>P</i>	1x	2x	<i>P</i>
Producción Leche (L/d)						
MN	0,913	1,376	0,03	0,668	0,804	0,18
LC	1,568	1,710	0,03	0,951	1,202	0,18
Grasa bruta, %						
MN	6,66	6,82	0,61	8,07	7,93	0,63
LC	6,20	5,55	0,02	6,49	6,45	0,87
Proteína bruta, %						
MN	5,64	5,54	0,54	6,22	6,02	0,26
LC	5,15	4,89	0,05	5,73	5,41	0,02
RCS, log <sub>10</sub> /ml						
MN	5,13	5,09	0,84	4,91	5,13	0,22
LC	5,28	5,28	0,99	5,13	5,44	0,18

Se puede concluir que las pérdidas de producción asociadas a la disminución de la frecuencia de ordeños son inferiores, y poco significativas, en razas de alto nivel productivo y gran tamaño cisternal (LC). La aplicación de un ordeño al día, a mitad o final de lactación, en razas de poca capacidad cisternal (MN), puede ser una buena alternativa de manejo, reduciéndose considerablemente el trabajo del ganadero, sin que se produzcan efectos negativos sobre la composición de la leche ni sobre la sanidad de la ubre de las ovejas en ordeño.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albanell, E., P. Cáceres, G. Caja, E. Molina, A. Gargouri. 1999. *J. AOAC*, 82: 753-758.
- Capote, J., J. L. López, G. Caja, S. Peris, A. Argüello, N. Darmanin. 1999. In: *Milking and Milk Production of Dairy Sheep and Goats*. Pág.: 267-273. F. Barillet and N. P. Zervas., ed. Wageningen Pers, Wageningen, Netherlands.
- Claesson, O., A. Hansson, N. Gustaffsson, E. Brannang. 1959. *Acta Agric. Scand.* 9: 38-58.
- Davis, S. R., V. C. Farr, K. Stelwagen. 1999. *Livest. Prod. Sci.* 59: 77-94.
- Labussière, J., J. F. Combaud, et P. Petrequin. 1974b. *Ann. Zootech.*, 23 (4): 445-457.
- Mocquot, J. C. 1978. In: *Proc. 2nd Int. Symp. Milking Small Ruminants*, Alghero, Italy. Pag. 175-201.
- Morag, M. 1968. *Ann. Zootech.*, 17: 351-369.
- Nudda, A., R. Bencini, S., Mijatovic, G. Pulina. 2002. *J. Dairy Sci.* 85: 2879-2884.
- Negrão, J. A., P. G. Marnet, J. Labussière. 2001. *Small Rum. Res.*, 39: 181-187.
- Papachristoforu, C., A. Roushias, A. P. Mavrogenis. 1982. *Ann. Zootech.*, 31 (1): 37-46.
- Salama, A. A. K., X. Such, G. Caja, M. Rovai, R. Casals, E. Albanell, M. P. Marín, and A. Martí. 2003. *J. Dairy Sci.* 86: 1673-1680.
- Stelwagen, K., S. R. Davis, V. C. Farr, S. J. Eichler. 1994a. *J. Dairy Sci.* 77: 2994-3001.

**Agradecimientos:** Trabajo financiado por el proyecto AGL2002-03472.

## **ANÁLISIS TÉCNICO-ECONÓMICO DE EXPLOTACIONES PORCINAS BASADO EN SIMULACIONES CON HOJAS DE CÁLCULO<sup>1</sup>**

X. Ezcurra<sup>1</sup> y L.M. Plà<sup>1,2</sup>

E-mail: xezcurra@matematica.udl.es/lmpla@matematica.udl.es

<sup>1</sup> Facultad de Derecho y Economía. Universidad de Lleida.

Jaume II, 73, 25001 Lleida

<sup>2</sup> Area de Producción Animal. Centro R+D, UdL-IRTA

Rovira Roure 177, 25198 Lleida

### **INTRODUCCIÓN**

Cualquier soporte a la toma de decisiones en explotaciones agrarias en general, y porcinas en particular, va adquiriendo cada día más importancia. Esto es debido a la intensificación de la producción en el sector porcino, el aumento de la competitividad y a una reducción en el margen de beneficio por unidad producida, con lo cual, las decisiones que se toman han de ser más eficientes. En este sentido, las aplicaciones orientadas a la ayuda a la toma de decisiones están resultando cada vez más necesarias.

Fundamentalmente la toma de decisiones en una explotación porcina la podríamos circunscribir en dos grandes ámbitos: ámbito técnico (relacionado con la dimensión, el sistema productivo, eficiencia técnica,...) y ámbito económico (relacionado con la financiación, impacto de precios, costes de producción, beneficios,...). En esta comunicación nos circunscribimos básicamente al ámbito económico.

El soporte que utilizaremos para el análisis técnico-económico como ayuda a la toma de decisiones será un modelo sintético, construido sobre unas hojas de cálculo (Powell y Baker, 2004). En este modelo pretende representar la evolución de algunas variables económicas elegidas como respuesta frente a las variaciones de una serie de variables exógenas basadas en datos reales.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para la creación del modelo se han utilizado hojas de cálculo de la aplicación MS Excel y para el análisis técnico-económico Crystal Ball<sup>2</sup> y el análisis de escenarios que facilita la propia hoja de cálculo. Hemos elegido estas herramientas porque hoy en día está al alcance de cualquier usuario, además de que su utilización no requiere de grandes conocimientos en el campo de la informática. El modelo representa los resultados anuales de una explotación de ciclo cerrado durante un periodo de cinco años de actividad. Como datos para el análisis hemos considerado precios medios anuales y su correspondiente variabilidad calculados a partir de las correspondientes series de precios de lechones y cerdo fijadas en la lonja de Mercolleida y publicados por el DARP<sup>3</sup> (<http://www.gencat.net/darp/c/dades/preus/cpm0501.htm>).

<sup>1</sup> Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto CICYT AGL2002-03960.

<sup>2</sup> <http://www.decisionengineering.com/>

<sup>3</sup> Departament d'Agricultura Ramaderia i Pesca de la Generalitat de Catalunya. (Departamento de agricultura, ganadería y pesca).

Las características generales del modelo son:

- Muy sencillo y didáctico: permite una fácil y rápida familiarización con él a partir de unos mínimos conocimientos en el campo económico-financiero y del sector porcino.
- Accesibilidad y transportabilidad al basarse en una aplicación muy extendida: Excel
- Síntesis elemental de las cuentas anuales y principales instrumentos de gestión de la empresa: Balance, Cuentas de explotación, Presupuesto de tesorería,...
- Simplificación de la realidad: para abstraerse de aspectos que pueden desviar la atención y no son relevantes a efectos de nuestro análisis.
- Adaptabilidad: a partir de este modelo se puede ampliar o adaptar para que pueda ser aplicable a otras situaciones particulares.
- Útil para analizar tanto el inicio de la actividad como la marcha de una explotación asentada.

Utilidades:

- Aplicación para la gestión de la explotación (toma decisiones tácticas y/o estratégicas, visión general de la explotación,...).
- Aplicación en estudios de viabilidad técnico-económica de la actividad (junto otros instrumentos complementarios). Análisis de costes, estructura financiera, etc.
- Aplicación para la determinación de los principales parámetros que solicitan las Administraciones Públicas en la solicitud de ayudas o subvenciones y en presentación a entidades financieras estudios para solicitud de crédito.
- Instrumento complementario para la impartición de cursos destinados a profesionales del sector de formación no económica.

El modelo utilizando como única variable exógena el precio de venta del kg de cerdo cebado, genera las principales cuentas e instrumentos de gestión de la empresa durante cinco ejercicios: Balance, Cuentas de explotación, Presupuesto de tesorería,.... El resto de variables se consideran endógenas, y por tanto, conocidas dentro del modelo (tipo interés, tipo impositivo, coste alimentación,...) La variable objeto de análisis es el beneficio contable después de impuesto de cada uno de los ejercicios.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Con el modelo hemos simulado los resultados de cinco años consecutivos del inicio de una explotación considerando el precio medio anual de venta del kg de cerdo cebado en un escenario optimista construido en base a los cinco mejores años de la serie de datos disponible (años 1995-96-97, 2000-01 de la serie del 1991 al 2004) y analizado el beneficio neto contable. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Igualmente hemos construido un escenario pesimista basado en los cinco peores años de la serie de datos disponible (años 1991-93-98-99, 2003 de la serie del 1991 al 2004) y analizado igualmente el beneficio neto contable.

Tabla 1: Beneficio medio de una explotación de ciclo cerrado con su variación extrema según el mejor precio anual medio de venta por kg de cerdo (mejor precio anual medio correspondiente a los cinco mejores años registrados en Mercolleida: 2001, 1997,1996, 1995, 2000)

<b>AÑO</b>	<b>PRECIO MEDIO</b>	<b>BENEFICIO MEDIO</b>	<b>BENEFICIO INFERIOR</b>	<b>BENEFICIO SUPERIOR</b>
<b>1</b>	<b>1,30</b>	<b>-20.839,73</b>	<b>-54.238,04</b>	<b>8.356,18</b>
<b>2</b>	<b>1,24</b>	<b>57.264,27</b>	<b>-35.120,96</b>	<b>170.010,80</b>
<b>3</b>	<b>1,19</b>	<b>43.542,65</b>	<b>-19.943,56</b>	<b>127.004,64</b>
<b>4</b>	<b>1,08</b>	<b>10.664,88</b>	<b>-28.093,72</b>	<b>48.638,22</b>
<b>5</b>	<b>1,06</b>	<b>6.486,77</b>	<b>-92.172,63</b>	<b>62.549,04</b>

Tabla 2: Beneficio medio de una explotación de ciclo cerrado con su variación extrema según el peor precio anual medio de venta por kg de cerdo (peor precio anual medio correspondiente a los cinco peores años registrados en Mercolleida: 1991, 2003,1998, 1993, 1999)

<b>AÑO</b>	<b>PRECIO MEDIO</b>	<b>BENEFICIO MEDIO</b>	<b>BENEFICIO INFERIOR</b>	<b>BENEFICIO SUPERIOR</b>
<b>1</b>	<b>0,95</b>	<b>-52.967,64</b>	<b>-68.497,67</b>	<b>-38.959,86</b>
<b>2</b>	<b>0,95</b>	<b>-33.787,75</b>	<b>-83.712,31</b>	<b>21.463,49</b>
<b>3</b>	<b>0,88</b>	<b>-53.930,16</b>	<b>-164.076,14</b>	<b>14.136,96</b>
<b>4</b>	<b>0,86</b>	<b>-60.214,24</b>	<b>-115.614,92</b>	<b>-12.832,15</b>
<b>5</b>	<b>0,81</b>	<b>-78.863,19</b>	<b>-171.888,94</b>	<b>8.423,12</b>

De los resultados se desprende el impacto que el precio de venta del producto tiene sobre el beneficio que proporciona la actividad. Además se puede apreciar como en una situación inestable como el inicio de la actividad junto con la variabilidad de los precios afectan a la consolidación de los resultados. Comparando los resultados de los dos escenarios podemos destacar dos aspectos:

1. El resultado contable del primer año en ambas series es negativo. En un escenario optimista el segundo año ya pueden haber ganancias.
2. Existe una importante incidencia del precio de venta sobre el resultado contable del ejercicio. En un escenario pesimista, resulta difícil que la actividad sea rentable. Más bien acumula pérdidas cada vez mayores.

Finalmente realizamos un análisis más detallado de los resultados obtenidos, para poder evaluar más profundamente la incidencia de las variaciones de precios sobre el beneficio. Analizamos incluso los efectos acumulados de una serie de años con "malos de precios" o "buenos de precios", que podríamos asociar con fases de crisis o expansión del sector.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

Powell, S.G. and Baker, K.R. 2004. The art of modeling with spreadsheets. John Wiley & sons Inc. New York.

## **EVALUACIÓN TÉCNICA DEL DIMENSIONAMIENTO SIMULADO DE EXPLOTACIONES PORCINAS<sup>1</sup>**

Plà, L.M.<sup>1,2</sup>, Babot, D.<sup>1</sup>

E-mail: [Impla@matematica.udl.es](mailto:Impla@matematica.udl.es) / [dbabot@prodan.udl.es](mailto:dbabot@prodan.udl.es)

<sup>1</sup>Area de Producción Animal. Centre R+D, UdL-IRTA  
Rovira Roure 177, 25198 Lleida

<sup>2</sup> Universidad de Lleida, Departamento de Matemáticas  
Víctor Siurana 1, 25003 Lleida

### **INTRODUCCIÓN**

El dimensionamiento de una granja de cerdos dependerá de las estrategias de manejo reproductivo que se pretendan llevar a cabo y de los índices productivos que se pretendan conseguir. Los métodos clásicos son sencillos pero se ha demostrado que no representan de forma precisa las necesidades de espacio para las diferentes secciones de una explotación de madres (Plà et al., 2004). El dimensionamiento de una explotación debe estar preparado para poder absorber las variaciones naturales que se puedan presentar en el manejo reproductivo de los animales como incidencia de abortos, descenso de fertilidad, aumento de la mortalidad, etc. En este trabajo presentamos un análisis del dimensionamiento de una explotación porcina y la variabilidad asociada que se deriva de la variabilidad propia de los parámetros considerados.

### **EL MODELO DE REBAÑO**

El modelo utilizado está basado en un modelo markoviano para el dimensionamiento de explotaciones de reproductoras (Plà et al., 1998). El modelo representa las necesidades espaciales de un rebaño a partir de la vida reproductiva de las cerdas de una granja. Las instalaciones se han dividido entre secciones: cubrición-control, gestación y sala de partos-lactación.

El modelo asume que todos los animales tienen el mismo potencial productivo. Los efectos nutricionales sobre la reproducción son tenidos en cuenta a través de los parámetros del modelo. Un parámetro básico para el modelo consiste en la duración media de un estado  $\tau_i$  y la estancia programada para una instalación. Los principales estados son: gestación, lactación, en espera de repetición (intervalo entre cubriciones), en espera de reemplazamiento (intervalo entre última cubrición-reemplazamiento), etc.

Bajo estas hipótesis el rebaño de cerdas reproductoras de la explotación se representa por una cadena de Markov aperiódica e irreducible. La estructura del rebaño en el equilibrio,  $\Pi_i = (\pi_1^D, \pi_2^D, \dots, \pi_{|S|}^D)$ , se calcula resolviendo el siguiente sistema de ecuaciones lineales:

---

<sup>1</sup> Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto CICYT AGL2002-03960.



$$\pi_j = \sum_{k \in S} \pi_k p_{kj} \quad j \in S \quad (1)$$

$$\sum_{j \in S} \pi_j = 1$$

donde  $p_{kj}^D$  representa las probabilidades de transición para pasar del estado  $k$  al  $j$  y  $\{\pi_j^D, j \in S\}$  representa la distribución en el equilibrio. De la Ec.1 y con la estancia media en cada estado  $\tau_i$ , la distribución media de las cerdas en cada estado se puede calcular:

$$B = \sum_{j \in S} \pi_j \tau_j \quad (2)$$

Utilizando la Ec. 2, pero redefiniendo los estados de acuerdo con la ocupación de las instalaciones, el resultado que se obtiene es la distribución del rebaño a través de las diferentes instalaciones consideradas, de las que se deriva el dimensionamiento mínimo de las mismas.

### ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD DEL DIMENSIONAMIENTO

Para evaluar el dimensionamiento se determino una explotación tipo que se dimensionó de acuerdo con el modelo propuesto. El tamaño del rebaño se fijó en 660 reproductoras, con un manejo semanal por lotes. La duración media en cubrición control se fijó en 40 días, en gestación 86 y en lactación 35. Se consideró un intervalo entre partos de 154 días. Para una vida productiva de 11 ciclos y 3 cubriciones como máximo el dimensionamiento obtenido se presenta en la Tabla 1.

		Instalaciones		
	Modelo	Cubrición-Control	Gestación	Lactación
Sin lotes	Clásico	172	369	150
	Nuevo	186	365	134
Con lotes	Nuevo	186	372	150

**Tabla 1.** Número de plazas por instalación dependiendo del modelo utilizado en el cálculo y el manejo o no por lotes.

El efecto de llevar un manejo por lotes, en el caso de admitir la recomposición de lotes en cubrición-control, es un aumento de las necesidades de plazas en gestación y lactación si nos centramos en el modelo propuesto. La comparación de estos resultados con el modelo clásico utilizado tradicionalmente permite comprobar como el modelo clásico dimensiona de forma aceptable las plazas en lactación, pero es deficiente en la determinación de necesidades en cubrición control y gestación.

Para alcanzar un dimensionamiento consistente con el manejo reproductivo de la explotación se analizó la sensibilidad de los resultados respecto a la variación de algunos parámetros considerados: duración de la lactación y fertilidad de las primíparas.

Para la duración de la lactación,  $L$ , se consideró una distribución normal  $L \sim N(21, 2^{\cdot}1)$  y se generaron mil valores para los que se calculó el dimensionamiento asociado. A continuación se muestra el resultado en la Tabla 2 donde se aprecia que el rango de variación fue diferente según la sección.

	Instalaciones		
	Cubrición-Control	Gestación	Lactación
Original	186	372	150
Inferior	181	361	130
Superior	192	384	167

**Tabla 2.** Rango del número de plazas por instalación a partir de mil duraciones de lactación simuladas según una distribución  $N(21,2'1)$ .

En cuanto a la fertilidad del primer ciclo,  $F$ , se consideró una distribución normal  $F \approx N(0'7,0'01)$  y se generaron mil valores para los que se calculó el dimensionamiento asociado como se muestra en la Tabla 3.

	Instalaciones		
	Cubrición-Control	Gestación	Lactación
Original	186	372	150
Inferior	170	358	140
Superior	208	384	154

**Tabla 3.** Rango del número de plazas por instalación a partir de mil fertilidades de primer ciclo simuladas según una distribución  $N(0'7,0'1)$ .

Los resultados obtenidos muestran como el impacto de la fertilidad del primer ciclo en el dimensionamiento de las instalaciones de la granja es remarcable, sobretudo a nivel de cubrición control. En cambio, la duración de la lactación afecta más a las necesidades de espacio en lactación y menos en cubrición control y gestación. Estos resultados enfatizan aún más el hecho de que el modelo clásico resulta inadecuado al no representar de forma precisa el manejo reproductivo de una granja, aunque presenta la ventaja de que siempre sobrestima ligeramente las necesidades de plazas en lactación que son las instalaciones que resultan más críticas, tanto desde el punto de vista económico por su coste como desde el punto de vista operativo-funcional de la explotación.

## CONCLUSIONES

Podemos concluir que el análisis de sensibilidad del dimensionamiento con el modelo propuesto refleja más fielmente la variabilidad de la estructura del rebaño y sirve mejor al propósito del dimensionamiento de la explotación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Plá, L.M. ; Conde J. and Pomar, J., 1998. Sow model for decision aid at farm level. In: Giron, F.J. (Eds.), Applied Decision Analysis. Kluwer Academic Publishers, Boston: 47-62.
- Plá, L.M.; Babot D. and Pomar, J., 2004. A mathematical model for designing and sizing sow farms. International Transactions in Operational Research 11: 485-494.

## **COMPARACIÓN DE LA PRODUCTIVIDAD DE LA PROGENIE DE CERDAS PRIMERIZAS CON LA DE CERDAS MULTÍPARAS**

C. Piñeiro<sup>1</sup>, M. Piñeiro<sup>1</sup>, J. Morales<sup>1</sup>, X. Manteca<sup>2</sup> y G. G. Mateos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>PigCHAMP Pro Europa S.A., 40006 Segovia

<sup>2</sup>Universitat Autònoma Barcelona, 08193 Barcelona

<sup>3</sup>Universidad Politécnica Madrid, 28040 Madrid.

### **INTRODUCCIÓN**

Las cerdas primerizas aportan un empeoramiento de los rendimientos reproductivos medios de una explotación, por su menor porcentaje de fertilidad, su menor tasa de fecundidad (menor número de partos) y menor prolificidad (Dial et al., 1992). En definitiva, presentan una menor productividad numérica que las cerdas multíparas. Este factor es especialmente importante ya que esta población puede representar entre un 20 y un 40 % de todas las cerdas reproductoras.

También se ha descrito que la progenie de cerdas primerizas presenta una menor viabilidad (Boyd et al., 2002; Moore, 2001). Sus lechones presentan un menor peso al nacimiento y una mayor mortalidad pre-destete. Es conocido como las cerdas primíparas, especialmente si no se ha hecho una buena adaptación, presentan una menor inmunidad. Su calostro, por lo tanto, aportará una menor cantidad de inmunoglobulinas y su progenie siempre será más susceptible a sufrir diferentes patologías.

Para conocer el impacto de la progenie de cerdas primerizas sobre la fase posterior, se desarrolló el presente ensayo. Se compararon los rendimientos productivos y la incidencia de patologías de lechones de cerdas primerizas y de multíparas durante la fase de lechonerías. Además se muestreó sangre de los animales con el fin de evaluar la concentración de una proteína de fase aguda, la Pig-MAP, que puede aportar información sobre el estado real de salud de los animales. Asimismo, se dispone de datos productivos y de mortalidad de lechones recogidos en diferentes ensayos previos realizados en la misma explotación, que se presentan en el último apartado del presente informe.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se desarrolló en una explotación de ciclo cerrado localizada en Cantalejo (Segovia). Para el ensayo se utilizaron un total de 400 lechones (LW x LR) de 28 días de vida al inicio del experimento ( $8,2 \pm 0,97$  kg PV). Los animales se alojaron en salas de 10 corrales (20 lechones / corral) y su seguimiento se produjo entre los 28 y los 60 días de vida. Se controlaron los rendimientos productivos, tanto la ganancia de peso diaria mediante pesaje individual de los lechones los días 28, 40 y 60 de vida, como el consumo medio diario y el índice de transformación determinado para cada corral. Las bajas y los tratamientos inyectables se registraron diariamente, y se tomó una muestra de sangre de 4 lechones / corral (40 lechones / tratamiento) los mismos días de control (28, 40 y 60 d de vida), con el fin de analizar la concentración sérica de la proteína de fase aguda Pig-MAP. Esta proteína de síntesis hepática forma parte de la primera reacción del organismo ante una situación adversa, como una patología o un estrés. Como resultado, se observa un incremento notable de su concentración en suero, incremento que se puede detectar incluso antes de la aparición del problema y su repercusión en los rendimientos productivos. Por este motivo, recientemente las proteínas de fase aguda se vienen utilizando como biomarcadores para la detección o susceptibilidad de patologías (Heegaard et al., 1998; Lauritzen et al., 2003) o bien de situación que suponen un estrés para el animal (Hicks et al., 1998).

Asimismo, se recopiló información de cinco ensayos previos en la misma fase de crecimiento (28 – 60 d de vida), contando con un total de 2660 lechones (1740 de multíparas y 920 de primerizas). En estos ensayos se controlaron los rendimientos productivos por corral (120 corrales de multíparas y 60 de primerizas) y se registraron las bajas diariamente.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (1994).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los rendimientos productivos se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1** – Ganancia media diaria (GMD; g/d), consumo medio diario (CMD; g/d) e índice de transformación (IT; g/g) de lechones de cerdas primerizas y multíparas entre los 28 y los 60 días de vida.

	GMD	CMD	IT
<b>MULTIPARAS</b>	456	500	1,09
<b>PRIMERIZAS</b>	391	453	1,17
<i>EEM</i> <sup>1</sup>	7,42	13,5	0,021
<i>P</i> <sup>2</sup>	***	*	*

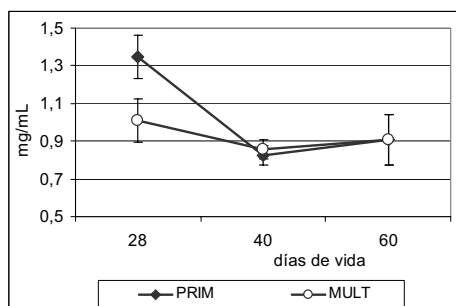
<sup>1</sup>Error Estándar de la Media; n=200 para GMD y n=20 para CMD e IT.

<sup>2</sup>Probabilidad; \*, P<0,05; \*\*\*, P<0,001

La progenie de cerdas primerizas obtuvo un peor rendimiento productivo a lo largo de toda la fase de lechonerías, resultando en un peso final marcadamente menor que la progenie de multíparas (20,8 vs 23,1 kg PV a los 60 d de vida; P<0,001). Ya en el momento del destete los lechones de primerizas presentan un menor PV (P<0,001). En la fase inmediata post-destete (28 – 40 d de vida), la capacidad de crecimiento de lechones de primerizas fue similar a la de los de multíparas (259 vs 263 g/d; P=0,65), e incluso mostraron un menor IT del alimento (1,19 vs 1,32 g/g; P=0,13). Sin embargo, muestran un menor consumo voluntario de alimento (306 vs 344 g/d; P=0,003). Posiblemente, este hecho junto con el menor PV al destete, comprometan de una forma importante a los rendimientos productivos del resto de su vida productiva.

A lo largo de la fase experimental se produjo un mayor porcentaje de bajas en lechones de cerdas primerizas que en los de multíparas (2,5 vs 0,5%; P=0,10), que pudo estar asociado con una mayor susceptibilidad a las patologías. La evolución de la concentración sérica de Pig-MAP también señaló esta mayor susceptibilidad (gráfico 1).

**Gráfico 1** – Evolución de la concentración de Pig-MAP en lechones de cerdas primerizas (PRIM) y de multíparas (MULT) entre los 28 y los 60 días de vida.



En el momento del destete, los lechones procedentes de primerizas presentaron una concentración de Pig-MAP superior a la de lechones múltiparas (1,35 vs 1,01 mg/mL;  $P < 0,01$ ). Basándonos en resultados obtenidos por nuestro grupo experimental, la concentración basal de Pig-MAP en un lechón está en torno a 1,0 mg/mL, y niveles superiores indican la presencia de alguna patología u otra situación adversa. Por lo tanto, los lechones de primerizas presentaban un menor estatus sanitario que los de múltiparas en el momento del destete, aunque no se observara una sintomatología clínica. La presencia de una patología subclínica pudo ser la causa de este incremento en la concentración sérica de Pig-MAP, y a su vez ser la responsable de la menor ingestión voluntaria de alimento y el peor ritmo de crecimiento de estos lechones durante la fase experimental.

En el global de 5 ensayos, también se observó un peor rendimiento productivo (Tabla 2) en los lechones de primerizas que en los de múltiparas. Asimismo, al igual que en el ensayo experimental, también se registró una mayor mortalidad de bajas en el grupo de primerizas que en el de múltiparas (4,89 vs 2,41%;  $P < 0,01$ ), así como una mayor incidencia de patologías (17,0 vs 6,0% lechones que requirieron un tratamiento terapéutico inyectable;  $P < 0,01$ ).

**Tabla 2** – Ganancia media diaria (GMD; g/d), consumo medio diario (CMD; g/d) e índice de transformación (IT; g/g) de lechones de cerdas primerizas y múltiparas entre los 28 y los 60 días de vida.

	<b>GMD</b>	<b>CMD</b>	<b>IT</b>
<b>MULTIPARAS</b>	420	560	1,34
<b>PRIMERIZAS</b>	367	496	1,37
<i>EEM</i> <sup>1</sup>	5,01	5,87	0,019
<i>P</i> <sup>2</sup>	***	***	NS

<sup>1</sup>Error Estándar de la Media; n=120 para lechones de múltiparas y n=60 para los de primerizas

<sup>2</sup>Probabilidad; NS,  $P > 0,10$ ; \*\*\*,  $P < 0,001$

Como conclusión, la progenie de primerizas presenta menores rendimientos productivos y una mayor prevalencia de patologías durante toda la fase de lechonerías. La concentración en suero de la proteína Pig-MAP podría ser un buen indicador del estado sanitario y de la susceptibilidad de patologías de los lechones durante la lactación, así como de los rendimientos productivos posteriores. Siempre que sea factible, podría ser interesante mantener en salas independientes tanto a las cerdas primerizas en las salas de lactación como a su progenie durante la fase de lechonerías.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boyd, R.D., Castro, G.C. y Cabrera, R.A. (2002) *Advances in Pork Production*, 13:47-59.
- Dial, G., Marsh, W., Polson, D. y Vaillancourt, J. (1992) Capítulo 6 en: *Diseases of Swine*, 7th Ed., Leman y col. (eds.) Iowa State University Press, EE.UU. pp: 88-137.
- Heegaard, P.M., Klausen, J., Nielsen, J.P., González-Ramón, N., Piñeiro, M., Lampreave, F., Alava, M.A. (1998) *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* (119): 365-373.
- Hicks, T.A., McGlone, J.J., Whisnant, C.S., Kattesh, H.G. y Norman, R.L. (1998) *J. Anim. Sci.*, 76: 474-483.
- Lauritzen, B., Lykkesfeldt, J., Skaanild, M.T., Angen, O., Nielsen, J.P. y Friis, C. (2003) *Res. Vet. Sci.*, 74: 261-270.
- Moore, C. (2001) *Proc. A.D. Leman Swine Conf.*, Univ. Minnesota, p. 203-206.
- SAS Institute (1994). *SAS® User's Guide: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC.

## **EFFECTO DEL SEXO, EL PESO AL SACRIFICIO Y LA LÍNEA PATERNA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE CRUCES RETINTO IBÉRICO X DUROC EN SISTEMAS INTENSIVOS**

M.P. Serrano<sup>1</sup>, D.G. Valencia<sup>1</sup>, A. Fuentetaja<sup>2</sup>, R. Lázaro<sup>1</sup> y G.G. Mateos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, UPM, Senda del Rey s/n, 28040 Madrid

<sup>2</sup>COPESE S.A., Conde de Sepúlveda 24, 40300 Sepúlveda, Segovia

### **INTRODUCCIÓN**

El incremento del tamaño de las explotaciones, la mejora del manejo y la productividad y la reducción de la mano de obra han reducido los costes de producción en porcino lo que ha favorecido el incremento del censo de cerdo Ibérico en regímenes intensivos. En la campaña 1986/1987, el 62,5% de los cerdos Ibéricos se cebaron con pienso, porcentaje que supuso el 85% en la campaña 1999/2000 (más de 1 millón de cerdos/año). Del resto, el 60% fueron cebados en montanera pura y el 40% fueron de recebo (Espárrago et al. 2001). La productividad de cerdos Ibéricos bien puros bien cruzados por Duroc en condiciones extensivas ha sido estudiada por numerosos autores (Forero, 1999, Mayoral et al. 1999, Barba et al. 2000). Sin embargo, los datos sobre factores que influyen sobre la productividad en condiciones intensivas son escasos. Por ello el objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del sexo, el peso al sacrificio (PS) y la línea paterna sobre la productividad de cerdos Ibéricos puros y cruzados alimentados con pienso desde el inicio del cebo hasta el momento del sacrificio.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

En el ensayo I se utilizaron 360 cerdos Retinto Ibérico x Duroc (1/3 hembras enteras, 1/3 hembras castradas y 1/3 machos castrados) y se consideraron dos rangos de peso vivo (PV) para estudiar el efecto del peso al sacrificio: 20 a 145 kg para cerdos que iniciaron la prueba con 80 d de vida y 30 a 155 kg para los que iniciaron la prueba con 110 d de edad. Cada uno de los seis tratamientos se replicó cuatro veces y la unidad experimental estuvo constituida por 15 cerdos alojados conjuntamente

En el ensayo II se utilizaron 180 cerdos (1/2 machos castrados y 1/2 hembras enteras) resultantes del cruce de hembra Retinta Ibérica pura por Duroc Danés mejorado (DD), Duroc Estándar de origen español (DE) o Retinto Ibérico (RI). El ensayo se inició cuando los lechones tuvieron un peso vivo aproximado de 20 kg y terminó cuando alcanzaron un peso medio de 145 kg. Cada tratamiento se replicó cinco veces y la unidad experimental estuvo constituida por seis cerdos alojados conjuntamente.

En el ensayo III se utilizaron 60 cerdas Retinto Ibérico por Duroc Estándar (1/2 hembras castradas y 1/2 hembras enteras) con un PV aproximado de 18 kg y 60 d de edad al inicio de la prueba y un PS de 144 kg. Cada tratamiento se replicó cinco veces y la unidad experimental estuvo constituida por seis cerdos alojados conjuntamente.

En todos casos los cerdos se alojaron a una densidad de 1,50 m<sup>2</sup>/cerdo en una nave de ambiente natural y tuvieron acceso *ad libitum* al agua y al alimento en forma de gránulo durante todo el ensayo. Las dietas, basadas en cereales blancos y harina de soja, se formularon de acuerdo con las Tablas FEDNA (2003) de composición de ingredientes. El crecimiento de los cerdos se controló de forma individual al inicio y al final de la prueba y cada 21 d, haciendo coincidir un control con cada cambio de pienso a los 80 y 110 kg de peso medio. A partir de estos datos se calculó el índice de conversión por réplica.

#### Análisis estadístico

Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1990) para diseños completamente al azar. En el ensayo 1 se incluyeron en el modelo como efectos principales el sexo, el PS y su interacción; en el ensayo 2 el sexo, la línea paterna y su interacción y en el ensayo 3 el sexo. En todos los casos se introdujo el peso inicial como covariable.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Ensayo I

De 25 a 110 kg PV las hembras enteras tendieron a comer menos ( $P < 0,10$ ) que las hembras o los machos castrados. De 80 a 110 kg PV las hembras enteras tendieron a ser más eficientes ( $P < 0,10$ ) que las hembras o los machos castrados pero no se detectaron diferencias de 25 a 80 kg. En el periodo de finalización (110 a 150 kg) las hembras enteras crecieron más ( $P < 0,001$ ) y fueron más eficientes ( $P < 0,01$ ) que hembras y machos castrados. Al final de la prueba, las hembras enteras consumieron menos pienso (2598 vs 2779 g/d;  $P < 0,01$ ) y fueron más eficientes (3,38 vs 3,68 g/g;  $P < 0,01$ ) que los cerdos castrados sin que se observaran diferencias entre sexos para la velocidad de crecimiento. Al aumentar el peso al sacrificio de 145 a 155 kg aumentó el consumo de pienso ( $P < 0,001$ ) y empeoró la conversión alimenticia ( $P < 0,10$ ).

### Ensayo II

Los machos castrados tendieron a consumir más pienso que las hembras enteras durante las fases de crecimiento (19 a 80 kg) y cebo (80 a 110 kg), así como al final de la prueba (2278 vs 2096 g/d; 3247 vs 3044 g/d y 2673 vs 2488 g/d, respectivamente;  $P < 0,10$ ). Las hembras enteras fueron más eficientes que los machos castrados de 19 a 80 kg ( $P < 0,01$ ), de 110 a 145,5 kg ( $P < 0,05$ ) y en el global de la prueba ( $P < 0,01$ ). De 19 a 80 kg las líneas DD y DE consumieron más pienso ( $P < 0,05$ ) y fueron más eficientes ( $P < 0,001$ ) que la línea RI. Asimismo la progenie DD creció más rápido que la DE y esta que la RI ( $P < 0,001$ ). De 80 a 110 kg y al final de la prueba las líneas DD y DE crecieron más rápido que la línea de RI (720 y 698 vs 617 g/d y 682 y 672 vs 534 g/d, respectivamente;  $P < 0,05$ ). De 80 a 110 kg los cerdos procedentes del cruce con DE fueron más eficientes que los RI puros presentando los cruces con DD valores intermedios (4,42 vs 4,61 vs 4,95 g/g;  $P < 0,05$ ). Asimismo al final de la prueba (19 a 145,5 kg) los cerdos Ibéricos puros fueron menos eficientes que los cruzados con DD o DE (4,56 vs 3,88 y 3,96 g/g;  $P < 0,001$ ).

### Ensayo III

De 18 a 80 kg las hembras castradas consumieron más pienso (2177 vs 1949 g/d;  $P < 0,01$ ) y crecieron más rápido que las hembras enteras (637 vs 596 g/d;  $P < 0,05$ ) sin que se observara influencia del tratamiento sobre la eficiencia alimenticia. De 18 a 110 kg y al final de la prueba las hembras castradas consumieron más pienso (2544 vs 2330 g/d y 2740 vs 2629 g/d, respectivamente;  $P < 0,05$ ) que las hembras enteras.

Las hembras enteras presentan mejores rendimientos productivos que machos o hembras castradas de 18 a 144 kg. Al aumentar el peso al sacrificio de 145 a 155 kg se incrementó el consumo de pienso y la conversión global. Los cruces de Ibérico x Duroc crecen más rápido y convierten mejor que los Ibéricos puros. Por ello las hembras enteras Ibérico x Duroc sacrificadas a 145 kg son una buena alternativa para la producción de productos curados cuando se consideran los costes productivos.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barba, C.; Delgado, J.V.; Sereno, R.B.S.; Diéguez, E. y Cañuelo, P. 2000. Caracterización productiva de las variedades del cerdo Ibérico. I: Estudio preliminar de los pesos y crecimientos en premontanera y en montanera. *Archivos de Zootecnia* 49: 179-187.
- Espárrago, F.; Cabeza de Vaca, F.; Molina, M.R. y Guijarro, J.L. 2001. La industria del cerdo Ibérico. En: *Porcino Ibérico aspectos claves*. Buxadé, C. y Daza, A. (Eds.). Ediciones Mundi Prensa, pp. 535-588.
- FEDNA. 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos. 2ª Ed. C. de Blas. G.G. Mateos y P. G. Rebollar. (Eds.) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid.
- Forero, F.J. 1999. Estudio comparativo de cinco estirpes de cerdo Ibérico. Diputación Provincial de Huelva. Área de agricultura, Ganadería, Pesca y Consumo. 2ª Edición. Huelva.
- Mayoral, A.I.; Dorado, M.; Guillén, M.T.; Robina, A.; Vivo, J.M.; Vázquez, C. y Ruiz, J. 1999. Development of meat and carcass quality characteristics in Iberian pigs reared outdoors. *Meat Science* 52: 315-324.
- SAS. 1990. SAS® user's guide. Version 6, 4th Ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU.



## **EFFECTO DE LA EDAD A LA PRIMERA CUBRICIÓN SOBRE LA PRODUCTIVIDAD GLOBAL DE CERDAS REPRODUCTORAS**

*M. Aparicio, L.M. Ramírez, S. Ayllón, J. Morales y C. Piñeiro  
PigCHAMP Pro Europa S.A., 40006 Segovia*

### **INTRODUCCIÓN**

La estructura de población de las granjas es uno de los factores de mayor influencia en la producción. Entre otros factores, dicha estructura está condicionada por una adecuada estrategia de renovación y desvieje del plantel de reproductoras, en la que la edad de cubrición de las primeras resulta una decisión de gran importancia, ya que los resultados productivos de las cerdas a lo largo de toda su vida dependerán, entre otros, de este factor. Además, los resultados productivos de los primeros partos tienen una gran influencia sobre la productividad global de la granja debido a que las cerdas primerizas suelen representar un elevado porcentaje de población.

Algunos estudios han concluido que a medida que aumenta la edad a la primera cubrición disminuye el número de lechones destetados por cerda a lo largo de su vida reproductiva y el número medio de partos en el momento de la baja (Koketsu et al., 1999 y Dagorn et al., 1997). Schukken et al. (1994), observaron que la primera cubrición a una edad más temprana compromete la prolificidad de los dos primeros partos, pero no afecta significativamente a la productividad global de las cerdas. Por otro lado, otros estudios han concluido que la edad óptima a la primera cubrición es entre los 210 y 240 días de vida, basándose en la productividad global y el máximo beneficio económico (Babot et al., 2003).

El objetivo del presente estudio fue estudiar la influencia de la edad a la primera cubrición sobre la eficiencia reproductiva de las cerdas a lo largo de toda su vida.

### **MATERIAL Y METODOS**

En el presente estudio se han analizado los resultados productivos y reproductivos de un total de 20.702 cerdas reproductoras pertenecientes a 80 granjas comerciales, recogidos mediante el programa de gestión de datos PigCHAMP®. Se utilizaron los datos recogidos entre los años 1997 y 2004, incluyendo exclusivamente cerdas nacidas dentro de este periodo de estudio y actualmente dadas de baja en la granja.

Las cerdas incluidas en el estudio, se distribuyeron en cuatro grupos según su edad a la primera cubrición: grupo de cerdas cubiertas antes de los 210 d de vida (GP), cubiertas entre los 210 y los 230 (GO), cubiertas entre los 230 y los 250 d de vida (GT) y cubiertas a partir de los 250 de vida (GMT).

Para la evaluación del intervalo óptimo de edad a la primera cubrición, se tuvo en cuenta la productividad global de la cerda: vida media expresada como número de partos en el momento del sacrificio (VM), número total de lechones destetados por cerda en toda su vida (LDV) y días no productivos (DNP) totales. También se analizaron los resultados productivos correspondientes al primer parto: total de lechones nacidos (NT), nacidos vivos (NV) y destetados (LD).

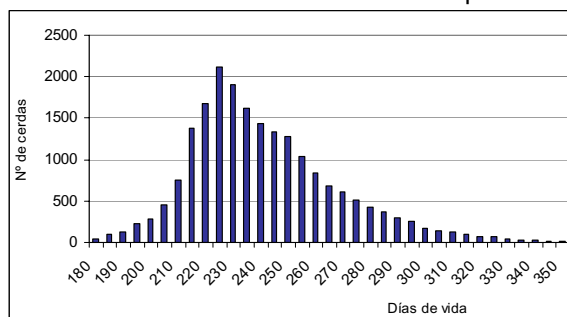
Las diferencias entre intervalos de edades a la primera cubrición se establecieron mediante intervalos de confianza del 95%, 99% y 99,9%, utilizando la media, la desviación estándar y el número de datos para cada grupo de cerdas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las granjas estudiadas, las cerdas reproductoras tuvieron una vida media de  $4,4 \pm 0,02$  ciclos reproductivos y producían un total de  $40,1 \pm 0,21$  LDV.

La distribución de la edad a la primera cubrición se muestra en el Gráfico 1. La edad media a la primera cubrición fue de  $239,6 \pm 0,20$  días de vida y presentó una amplia dispersión, siendo los intervalos medios, tanto el teóricamente óptimo entre 210 y 230 d y el inmediatamente posterior (230 – 250 d) los que concentraban el mayor porcentaje de cerdas (33,4 y 27,7% de cerdas, respectivamente).

**Gráfico 1** – Distribución de la edad a la primera cubrición



En la tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a la productividad global de cada grupo de cerdas.

**Tabla 1** – Número de partos en el momento de la baja (vida media), total de lechones destetados por la cerda durante toda su vida productiva (LDV) y días no productivos (DNP) según la edad a la primera cubrición.

	n	Vida Media		LDV		DNP	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
<b>GP</b>	1863	5,0 <sup>a</sup>	3,01	45,3 <sup>a</sup>	29,42	151 <sup>d</sup>	73,5
<b>GO</b>	6919	4,5 <sup>b</sup>	2,99	40,7 <sup>b</sup>	28,90	163 <sup>c</sup>	70,3
<b>GT</b>	5739	4,4 <sup>bc</sup>	3,11	39,6 <sup>bc</sup>	29,78	177 <sup>b</sup>	196,9
<b>GMT</b>	6181	4,3 <sup>c</sup>	3,26	38,5 <sup>c</sup>	30,78	211 <sup>a</sup>	83,8

Letras en superíndice diferentes en una misma columna indican diferencias significativas

Según los resultados obtenidos, cuanto más temprana sea la edad de la primera cubrición, mayor es la vida productiva media de la cerda, tal y como habían observado otros autores en estudios similares (Schukken et al., 1994; Koketsu et al., 1999). En el presente estudio, el número de ciclo en el momento del sacrificio fue significativamente mayor ( $P < 0,001$ ) para el GP que para el resto de grupos. La productividad global, expresada como número total de lechones destetados por cerda, también fue mayor ( $P < 0,001$ ) en el GP que en el resto. Por otro lado, tal y como se esperaba, el total de DNP también se incrementa con la edad a la primera cubrición ( $P < 0,001$ ). Estos resultados productivos sugieren que es más rentable la cubrición a una edad más temprana.

Esta tendencia observada en la productividad global puede parecer muy distinta si sólo se consideran los resultados obtenidos en el primer parto, una

práctica que suele ser muy común en la valoración de una cerda reproductora. En este sentido, diferentes autores (Brooks y Smith, 1980; Schukken et al., 1994) han observado que la prolificidad en el primer parto aumenta con la edad a la primera cubrición de la cerda, y es a partir del tercer parto cuando ya no existen diferencias significativas de prolificidad. En el presente estudio, no se observaron diferencias significativas en el número de lechones nacidos vivos en el primer ciclo (Tabla 2). Sin embargo, tal y como observaron los autores consultados, el número de lechones nacidos vivos y de lechones destetados en el primer parto puede ser mayor al aumentar la edad de la primera cubrición. Este efecto tampoco se observó a partir del segundo ciclo.

**Tabla 2** – Número de lechones nacidos vivos y destetados en el primer parto según la edad a la primera cubrición.

	n	Nacidos vivos		Lechones destetados	
		Media	D.E.	Media	D.E.
<b>GP</b>	1733	8,90	2,95	8,45	2,34
<b>GO</b>	6304	8,95	3,05	8,51	2,39
<b>GT</b>	5195	9,03	3,00	8,54	2,34
<b>GMT</b>	5343	8,99	3,06	8,59	2,36

P>0.05 entre los 4 grupos evaluados

Los resultados de este estudio sugieren que los resultados obtenidos en toda la vida de la reproductora son mejores cuando las cerdas se cubren en el entorno de los 200 d de vida, en coincidencia con los trabajos de otros autores. El retraso de este momento no supone ninguna ventaja en el total de la vida productiva de la cerda, a pesar de que los resultados del primer parto puedan resultar mejores con una cubrición más tardía. Por otra parte, no deben olvidarse otros factores como el estado sanitario de la renovación y de la granja, el estado corporal de las cerdas y el sistema de manejo (boxes o sueltas) con los que conjuntamente, podrá tomarse la mejor decisión en cuanto al momento óptimo de la cubrición.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Babot, D., Chavez, E.R. y Noguera, J.L. (2003) The effect of age at first mating and herd size on the lifetime productivity of sows. *Anim. Res.*, 52 : 49-64.
- Brooks, P.H. y Smith, D.A. (1980) The effect of mating age on the reproductive performance, food utilization and live weight change of the female pig. *Livest. Prod. Sci.*, 7: 67-78.
- Dagorn, J., Boulot, S., Le Cozler, Y., Dourmad, J.Y. y Pellois, H. (1997) Analyse des modalités de mise à la reproduction des cochettes dans les élevages français. Conséquences sur les carrières des truies. *Journées Rech. Porcine en France*, 29 : 115-122.
- Koketsu, Y., Takahashi, H. y Akachi, K. (1999) Longevity, lifetime pig production and productivity, and age at first conception in a cohort of gilts observed over six years on commercial farms. *J. Vet. Med. Sci.*, 61: 1001-1005.
- Schukken, Y.H., Buurman, J., Huirne, R.B.M., Willemsse, A.H., Vernooij, J.C.M, van der Broek, J. y Verheijden, J.H.M. (1994) Evaluation of optimal age at first conception in gilts from data collected in commercial swine herds. *J. Anim. Sci.*, 72: 1387-1392.

## **ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO DE LECHONES A DIFERENTES EDADES DE DESTETE**

Caballero de la Calle J.R., Serrano A., López Fuentes F.  
E.U. de Ingeniería Técnica Agrícola de Ciudad Real. UCLM.

### **INTRODUCCIÓN**

El destete es un proceso normal y paulatino, en el transcurso del cual los animales comienzan a ingerir alimentos sólidos de forma simultánea con la reducción de la producción láctea de la madre, de tal modo que, gradualmente, el lechón suprime su dieta láctea aunque se enfrenta a una constante situación de estrés (Ribot, 1996).

Aunque en las explotaciones porcinas intensivas clásicas la practica de destetes precoces deriva en un aumento del intervalo destete celo y en una reducción del tamaño de la camada; sin embargo, en algunos sistemas nuevos de producción porcina puede estar justificado por motivos sanitarios y/o productivos (Daza et al., 1999).

Las modernas técnicas de producción porcina exigen cada vez más destetes tempranos, aun a sabiendas que los lechones se encuentran en niveles mínimos de defensa inmunitaria entre los 14 y los 21 días (Durán, 1990).

Por este motivo en este trabajo nos planteamos la comparación del crecimiento de los lechones destetados a las tres semanas de vida y aquellos otros que siguen los planteamientos clásicos de la producción porcina (6 semanas), hasta su entrada en el cebadero con 20 kg.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El trabajo se realiza en una explotación porcina de 100 madres situada en la provincia de Toledo. Se utilizan 210 lechones que son la descendencia de 25 reproductoras híbridas (LxLW) inseminadas con un macho cruzado (PxLWxD). Las 25 cerdas se dividen en dos grupos de 13 y 12 cerdas respectivamente.

Las cerdas del Grupo 1 producen un total de 118 lechones y las del Grupo 2 producen un total de 113 lechones. Una vez destetadas, las camadas se meten en corrales independientes para evitar que se produzcan peleas y puedan provocar estrés en los lechones y allí permanecen hasta el final de la prueba. De esta manera en el Grupo 1 tendríamos 13 lotes de lechones a razón de una media de  $9,1 \pm 1,8$  animales/lote y 12 lotes en el Grupo 2 a razón de  $9,4 \pm 2,3$  animales/lote. Los pesos de los animales, los consumos de pienso y la mortalidad se realizan de forma independiente en cada lote.

A los lechones de ambos grupos se les suministra pienso lactoiniciador a la semana del nacimiento y diez días después se comienza a mezclar este pienso con el definitivo, de esta forma paliaremos en parte el estrés post-destete. A partir de los 21 días empieza a diferenciarse el manejo y el tiempo que tarda cada grupo en llegar a un peso aproximado de 20 kg, que es donde finaliza la experiencia y los lechones son vendidos al cebadero.

Se calcula la Ganancia Media Diaria (GMD), el Índice de Conversión (IC) y el Índice de Mortalidad (IM) de ambos grupos. Con los resultados de estos parámetros

se realiza un análisis estadístico con el programa SPSS 11.5, para comprobar si existen diferencias significativas entre ellos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cerdas del Grupo 1 producen un total de 118 lechones con un peso medio al nacimiento de  $1,36 \pm 0,21$  kg. El destete se realiza a los 21 días con un peso medio de  $5,32 \pm 0,35$  kg. El índice de mortalidad fue de 7,63%.

En el Grupo 2 se producen un total de 113 lechones con un peso medio al nacimiento de  $1,31 \pm 0,17$  kg. A los 21 días los lechones llegaron con un peso medio de  $5,39 \pm 0,57$  kg. El índice de mortalidad fue de 4,43%. Estos datos iniciales nos permiten buscar diferencias significativas en el peso al nacimiento y a los 21 días de ambos lotes y vemos que no hay diferencias significativas con lo que podemos realizar la comparación de su crecimiento. Este peso a los 21 días es sensiblemente inferior a los aportados por Estany et al. (1997) en lechones de línea Landrace ( $6,28 \pm 1,47$  kg).

Para el periodo desde los 21 a los 42 días los consumos de pienso son muy diferentes puesto que los lechones del Grupo 2, mientras que la cerda tiene suficiente leche, comen significativamente ( $P < 0,001$ ) menor cantidad de pienso que los del Grupo 1.

Sin embargo la GMD de los lechones destetados a los 42 días es significativamente más elevada ( $P < 0,05$ ) que las de los lechones del Grupo 1 a esta misma edad. El peso final de ambos grupos es también diferente y favorable a los lechones del Grupo 2, aunque no hay diferencias significativas entre ellos (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Resultados del periodo desde los 21 a los 42 días

VARIABLES	GRUPO 1	GRUPO 2
Peso lechón a los 21 días (kg)	$5,32 \pm 0,35^a$	$5,39 \pm 0,57^a$
Consumo medio diario (g)	$307,9 \pm 25,1^a$	$81,4 \pm 7,5^b$
GMD (g)	$186,4 \pm 12,4^a$	$211,4 \pm 6,9^b$
Peso lechón a los 42 días (kg)	$9,24 \pm 0,21^a$	$9,88 \pm 0,53^a$

Medias con diferentes superíndices denotan diferencias significativas  $P < 0,05$

Para el periodo desde los 42 al final de la experiencia los consumos diarios de pienso son muy similares en ambos grupos. La GMD de los lechones destetados a los 42 días es más elevada ( $P < 0,05$ ) que las de los lechones del Grupo 1.

Por otra parte, no hay diferencias significativas entre grupos en lo referente al índice de conversión. Resultado que está de acuerdo con Ovejero (1999) que sólo encuentra diferencias en el índice de conversión de los lechones cuando estos son alojados sobre diferentes tipos de suelo (hierro fundido, hormigón, barras planas...). También Torres et al. (1996) sólo encuentran diferencias en función del tamaño de comedero, o Rioperez et al. (2002) con respecto a la presentación del pienso.

El peso final de ambos grupos es también diferente y favorable a los lechones del Grupo 2 ( $P < 0,05$ ). Ya que la duración de la experiencia es significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) en el caso de los lechones pertenecientes al Grupo 1, si queremos que estos alcancen el peso esperado de 20 kg (Cuadro 2). Estas cifras son claramente

inferiores que las aportadas por Lainez et al. (1999) en explotaciones porcinas de la Comunidad Valenciana (20,3 kg y 9,05 semanas).

**Cuadro 2.** Resultados del periodo desde los 42 días al final de la experiencia

VARIABLES	GRUPO 1	GRUPO 2
Peso lechón a los 42 días (kg)	9,24 ± 0,21 <sup>a</sup>	9,88 ± 0,53 <sup>a</sup>
Consumo medio diario (g)	543,2 ± 47,5 <sup>a</sup>	571,9 ± 23,7 <sup>a</sup>
GMD (g)	294,4 ± 5,7 <sup>a</sup>	318,6 ± 22,4 <sup>b</sup>
Peso final (kg)	19,54 ± 0,32 <sup>a</sup>	20,20 ± 0,33 <sup>b</sup>
Duración de la experiencia (días)	76	74

Medias con diferentes superíndices denotan diferencias significativas  $P < 0,05$

Haciendo un cómputo global de la experiencia encontramos que los lechones destetados a los 42 días tienen una GMD de 253 g y que es significativamente mayor ( $P < 0,05$ ) que la obtenida para los lechones destetados a los 21 días y que fue de 235 g Ciria et al. (1999) justifican estas diferencias a las simples variaciones del sistema de manejo que se aplique en la granja.

Estos resultados son sensiblemente menores que los obtenidos por Rioperez et al. (2002) en explotaciones de ambiente controlado y animales de buen nivel genético (400 g/día). Delgado-Pertiñez et al. (1999) en lechones cruzados (Ibérico x Duroc), también encuentran diferencias en la GMD en función de la edad de destete, aunque el hecho de realizar la experiencia en explotaciones diferentes puede marcar de alguna forma el resultado final.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ciria, J.; Asenjo, B. (1999). Producción porcina en múltiples fases. En Producción porcina: aspectos claves. 2ª Ed. Mundi-Prensa.
- Daza, A.; Rioperez, I.; Ovejero, S.; Martín Rillo, S.; de Alba, C. (1999). ITEA, Vol. Extra 20 (2) 663-665.
- Delgado-Pertiñez, M.; Castel, J.M.; Herrera, A.; Sánchez, S.; Mena, Y. (1999). ITEA, Vol. Extra 20 (2) 765-767.
- Duran, R. (1990). Mundo Ganadero (4) pp.38-42.
- Estany, J.; Tibau, J.; Soler, J.; Noguera, J.L. (1997). ITEA, Vol. Extra 18 (1) 403-405.
- Lainez, M.; Balash, S.; Marzá, V.; Gil, J.L.; Torres, A. (1999). ITEA, Vol. Extra 20 (2) 756-758.
- Ovejero, I. (1999). Alojamientos para transición y cebo: últimas tendencias. Producción porcina: aspectos claves. Mundi-Prensa.
- Rioperez, J.; Rodríguez, M.L. (2002). Mundo Ganadero, (143) 23-27.
- Ribot, A. (1996). Zootecnia: BPA. Tomo VI. Pp. 169-179. Mundi-Prensa. Madrid
- Torres, A.; Moreno, R.; Chueca, C. (1996). Zootecnia: BPA. Tomo VI. Pp. 263-284. Mundi-Prensa. Madrid.

## EFFECTO DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN EN LA PARTE MEDIA DE LA GESTACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE LAS CERDAS NULÍPARAS

A. Cerisuelo<sup>1</sup>, R. Sala<sup>1</sup>, D. Carrión<sup>2</sup>, J. Coma<sup>3</sup>, S. Tibble<sup>4</sup>, J. Gasa<sup>1</sup>, D. Baucells<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U. de Nutrició Animal, Universitat Autònoma de Barcelona,  
<sup>2</sup>PIC España, S.A, <sup>3</sup>Grupo Vall Companys, <sup>4</sup>SCA Ibérica

### INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el potencial genético de las cerdas se ha modificado considerablemente mientras que la estrategia general de alimentación para las cerdas gestantes ha sufrido pocas variaciones. La cerda actual presenta un mayor potencial productivo, una menor capacidad de engrasamiento y una menor capacidad de ingestión que la cerda de hace unos años (Close y Cole, 2003). En granja se ha descrito que durante la lactación, la cerda no es capaz de satisfacer sus necesidades mediante la ingestión de pienso. Por este motivo, en ocasiones experimenta una excesiva pérdida de peso y reservas corporales y, como consecuencia, una disminución de los rendimientos post-destete y la vida útil en granja (Eissen *et al.*, 2003). En las cerdas nulíparas, este problema se ve agravado al manifestar una menor capacidad de ingestión y presentan, proporcionalmente, unas mayores necesidades en energía y nutrientes derivadas del crecimiento materno.

Un aumento de la ingestión durante la gestación podría ser útil para garantizar una mayor cantidad de reservas al parto y al destete. Con el fin de evitar problemas de mortalidad embrionaria al principio y problemas de engrasamiento de la glándula mamaria al final de la gestación, la parte central de la gestación se presenta como el momento idóneo para incrementar el nivel de alimentación. Como contrapartida, tradicionalmente se ha relacionado un aumento de las reservas grasas al parto con una pérdida de apetito durante la lactación (Dourmad, 1991; Revell *et al.*, 1998). Hoy en día el hecho de contar con genotipos más magros hace, cuanto menos cuestionar, si esta relación asumida sigue vigente.

El presente trabajo tiene como objetivo principal estudiar el efecto del aumento del nivel de alimentación en la parte central de la gestación sobre la gestión de las reservas corporales y sobre los rendimientos productivos durante el primer ciclo reproductivo, así como comprobar la vigencia de la relación existente entre el aumento del nivel de alimentación en gestación y la ingestión voluntaria en lactación.

### MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la granja multiplicadora "Santa Ana", situada en la provincia de Soria. Noventa cerdas LDxLW fueron seleccionadas a los 40 días de gestación (156±14,6 kg) según el día de cubrición y distribuidas en dos tratamientos: control (C) y experimental (E). Las cerdas del grupo C (n=43) recibieron el nivel de alimentación establecido en granja para el periodo de gestación (3 kg/d, 8,7 Mcal EM/d y 18,6 g lisina/d). Al grupo E (n=48) se le administró un nivel de alimentación un 50% superior al nivel del grupo C desde los 40-45 a los 80-85 días de gestación.

Se registró el peso vivo (PV) de las cerdas a los 40 días de gestación, a las 48±24h post-parto y al destete. El espesor de tocino dorsal (ETD) y la profundidad de lomo (L2) se obtuvieron mediante ultrasonidos (Renco sonograder 4.2, Renco Corp., MN) en el punto de medida P2, a los 40 y 80 días de gestación, al parto y a los 18±1 días de lactación. Se registraron tanto el número como el peso de los lechones totales, vivos, muertos y momificados al nacimiento y el número y peso de los lechones a los 18±1 días de lactación. También se calculó la producción de leche estimada durante la lactación considerando un índice de conversión de la leche de 4 L/kg de ganancia

(Close y Cole, 2003). Al destete se registró el intervalo destete-1ª cubrición (IDC). En un subgrupo de cerdas (n=19, C=10 y E=9), se estimó además la ingestión media en lactación.

Los resultados se analizaron utilizando los procedimientos MIXED y GLM de SAS (SAS, 2004) considerando el nivel de alimentación durante la gestación como único factor principal.

## RESULTADOS

Las cerdas del grupo E presentaron un mayor ETD a los 80 días de gestación (18,3 mm vs 16,9 mm, P=0,015) y tendieron a presentar un mayor contenido graso al parto (17,9 mm vs 16,8 mm, P=0,080). Al destete, el grupo E conservó una diferencia numérica de prácticamente 1mm de ETD con respecto al grupo C (14,3 mm vs 13,4 mm, P=0,167). Durante la gestación, las ganancias de PV, ETD y L2 fueron superiores en el grupo E. Sin embargo, las pérdidas durante la lactación no difirieron entre tratamientos.

Al final del primer ciclo reproductivo (desde los 40 días de gestación hasta el destete), los dos grupos ganaron PV, el balance de L2 fue positivo para el grupo E y negativo para el grupo C y el balance de ETD fue negativo para ambos tratamientos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Cambio neto en PV y composición corporal de las cerdas nulíparas durante su primer ciclo reproductivo (40 días de gestación-destete).

Tratamiento	C	E	EE*	p-valor
PV (kg)	13,7	16,7	1,96	0,262
L2 (mm)	-1,11	1,50	0,810	0,023
ETD (mm)	-1,76	-1,09	0,440	0,270

\*Error estándar de las LSmeans.

El aumento del nivel de alimentación durante la gestación no provocó diferencias en los rendimientos productivos al parto. Únicamente el peso medio del lechón al nacimiento tendió a ser superior en el grupo E (1,39 kg vs 1,31 kg, P=0,053). A los 18 días de lactación, el número y peso de los lechones fue similar entre tratamientos. Tampoco se encontraron diferencias en la producción media de leche estimada para este periodo (C=7,9 L/d y E=7,8 L/d, P=0,828). Sin embargo, se detectaron únicamente 2 casos del síndrome mamitis-metritis-agalaxia y ambos pertenecieron al grupo E.

La ingestión media estimada durante la lactación tendió a ser inferior en el grupo E (4,92 kg MS/d vs 5,14 kg MS/d, P=0,066).

Al destete, el IDC registrado para los dos tratamientos no presentó diferencias estadísticamente significativas (C=5,7 d vs E=5,8 d, P=0,329).

## DISCUSIÓN

La ganancia neta de peso observada en el periodo a estudio (desde los 40 días de gestación hasta el destete) evidencia el crecimiento materno de las cerdas durante su primer ciclo reproductivo. Sin embargo, al igual que sucede en otros estudios (Young *et al.*, 1990; Dourmad *et al.*, 1991) este crecimiento no vino acompañado de un aumento de las reservas grasas, ni siquiera en el grupo E donde la alimentación durante la parte central de la gestación fue mayor. En este grupo, por el contrario, si se observó un aumento neto de L2. Este hecho confirma la dificultad de conservar un nivel de reservas grasas óptimas al destete y la importancia del desarrollo del tejido magro para los nuevos genotipos.



Un aumento del nivel de reservas al parto se ha relacionado con una menor ingestión en lactación y, en consecuencia, con una disminución de los rendimientos post-destete (Dourmad, 1991; Revell *et al.*, 1998). En el presente trabajo y, a pesar de haberse observado que la ingestión media en lactación tendía a ser menor en el grupo E, las pérdidas de PV y reservas corporales en lactación fueron similares en los 2 grupos. De este modo, las cerdas del grupo E se destetaron con valores de ETD similares e incluso numéricamente superiores a los observados en el grupo C y no se observaron diferencias en el IDC ni en la productividad numérica al segundo parto. Por lo tanto, parece que aún existe una cierta relación inversa entre la ingestión en gestación y lactación. En nuestro caso, un aumento de la ingestión en gestación de 1 kg/d de pienso provocó una disminución de la ingestión en lactación de 0,350 kg/d. Sin embargo, un mayor aporte de nutrientes durante la gestación puede aumentar y actuar como medida protectora de las reservas al destete (Mejía-Guadarrama *et al.*, 2003).

A pesar de que en la literatura el aumento del peso al nacimiento ha sido generalmente asociado a un incremento del aporte energético al final de la gestación (Cromwell *et al.*, 1989), en el presente estudio, un incremento de la ingestión limitado a la parte central de la gestación también favoreció el peso medio al nacimiento.

En conclusión, el aumento del nivel de alimentación durante la parte central de la gestación podría constituir una estrategia de alimentación útil para mantener y aumentar las reservas corporales en partos sucesivos. Sin embargo, cabría evaluar sus posibles efectos a largo plazo sobre el desarrollo de la glándula mamaria en gestación.

Por último, dado que se ha descrito que el aumento de la ingestión durante la gestación puede tener un efecto sobre el crecimiento de la progenie (Efecto Stickland), se está evaluando como parte de este mismo proyecto, el posible efecto de esta estrategia de alimentación sobre el desarrollo de las fibras musculares de la progenie.

### **AGRADECIMIENTOS**

Este proyecto ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto PETRI 95.0639.OP y la concesión de una beca predoctoral FPI de la Generalitat de Catalunya. Los autores agradecen la colaboración de la granja Santa Ana (Soria).

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Close, W. H., D. J. A. Cole, 2003. Nottingham University Press. Nottingham. UK
- Cromwell, G. L., D. D. Hall, A. J. Clawson *et al.*, 1989. *Journal of Animal Science* 67: 3-14.
- Dourmad, J. Y., 1991. *Livestock Production Science* 27:309-319.
- Eissen, J. J., E. J. Apeldoorn, E. Kanis, M. W. A. Verstegen, K. H. de Greef, 003. *Journal of Animal Science* 81: 594-603.
- Mejía-Guadarrama, C. A., A. Pasquier, J. Y. Dourmad, A. Prunier, H. Quesnel, 003. *Journées Rech. Porcine en France* 35: 141-148.
- Revell, D. K., I. H. Williams, B. P. Mullan, J. L. Ranford, R. J. Smits, 1998. *Journal of Animal Science* 76: 1729-1737.
- SAS, 2004. *SAS User's Guide V8*. Statistics SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Young, L. G., G. J. King, J. S. Walton, I. McMillan, M. Klevorick, J. Shaw, 1990. *Canadian Journal of Animal Science* 70: 493-506.

## EFFECTO DE UNA RESTRICCIÓN MUY MODERADA DE PIENSO DURANTE EL PERIODO DE CRECIMIENTO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS DE CERDOS LARGE WHITE X (LARGE WHITE X LANDRACE).

Daza, A<sup>1</sup> ; Rey, A. I<sup>2</sup> ; López Bote, C. J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal. E.T.S de Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. <sup>2</sup>Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040 Madrid.

### INTRODUCCIÓN

Los experimentos de crecimiento compensatorio, a nuestro juicio, siguen siendo actualmente útiles para el sector porcino debido, por una parte, a que el coste de alimentación del segmento productivo del cebo supone alrededor del 80% del coste total y por otra a que los resultados obtenidos en los sucesivos estudios realizados han sido dispares y poco concluyentes (Lovatto et al., 2000)

En experimentos previos se ha demostrado que una severa restricción de pienso, próxima al 50% del consumo *ad libitum*, durante la fase de crecimiento empeoraba significativamente la ganancia media diaria global durante el periodo de cebo (crecimiento y acabado), mientras que cuando el grado de restricción era sólo de un 25% del consumo *ad libitum* los cerdos restringidos tendían a crecer más que los no restringidos durante el cebo y a alcanzar un peso más elevado al sacrificio (Daza et al., 2003). En un experimento de Prince et al (1983) con un nivel de restricción de 15% durante el periodo de crecimiento, aplicado durante cuatro semanas, se logró que los cerdos restringidos tendieran a consumir una cantidad media diaria menor de pienso y a presentar un índice de transformación del alimento más favorable que los no restringidos, resultados que sin embargo no fueron observados por Donker et al (1986) para el mismo nivel de restricción. Estos resultados contradictorios nos han movido a diseñar un experimento con un nivel de restricción próximo al utilizado por los autores anteriores y aplicado durante cuatro semanas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 80 cerdos machos enteros Large White x (Large White x Landrace) con el mismo origen genético y un peso inicial de 30,83 kg. El diseño experimental consideró dos tratamientos : restricción del 17% de consumo *ad libitum* durante cinco semanas del periodo de crecimiento (35 primeros días del experimento) (tratamiento R) frente a no restricción (tratamiento NR) durante dicho periodo. Cada tratamiento incluyó cuatro réplicas, con 10 cerdos por réplica, que se distribuyeron al azar en una nave experimental de la E.T.S.I.A de Madrid en la que se registraron diariamente las temperaturas máximas y mínimas. Finalizado el periodo inicial experimental de cinco semanas todos los cerdos fueron alimentados *ad libitum* durante el periodo de posrestricción hasta el sacrificio. El pienso comercial único empleado contenía 3200 kcal de EM / kg, 17% de proteína bruta y 1,27% de lisina. Los cerdos se pesaron los días 0 (inicial), 35 (final de la fase de restricción) y 90 (final) y el consumo de pienso se controló por réplica. Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de covarianza utilizando el paquete estadístico SAS (1999). El tratamiento se consideró como efecto fijo y se introdujeron en el modelo el peso inicial de los cerdos como covariable para el peso y ganancia media diaria de los cerdos o el peso inicial de las réplicas para el consumo medio diario de pienso y

el índice de transformación del alimento. Cuando la covariable no era significativa ( $P > 0.05$ ) para alguna de las variables estudiadas era retirada del modelo estadístico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El experimento transcurrió bajo un intervalo de temperaturas medias diarias comprendido entre  $16,81^{\circ}\text{C}$  y  $20,9^{\circ}\text{C}$  valores que pueden considerarse como próximos a las temperaturas de confort recomendadas en el cebo de cerdos (Whittemore, 1993).

Los cerdos restringidos al final del periodo de restricción tendieron ( $P < 0,07$ ) a presentar menos peso que los no restringidos no dándose diferencias estadísticamente significativas entre los pesos de los animales restringidos y no restringidos al final del cebo (Tabla 1). El peso inicial de los cerdos afectó significativamente ( $P < 0,05$ ) al peso alcanzado al final de la fase de restricción y al peso obtenido al final de cebo de manera que a medida que aumentaba el peso inicial se incrementaban ambos. Sin embargo, el peso inicial no tuvo influencia significativa sobre la ganancia media diaria en ninguno de los periodos estudiados, aunque conforme aumentaba dicha variable se incrementaba el consumo medio diario de pienso y el índice de transformación del alimento.

Como se esperaba, durante el periodo de restricción los cerdos R exhibieron un crecimiento medio diario significativamente inferior que los NR, y de acuerdo con los resultados obtenidos en otros experimentos (Prince et al., 1983 ; Donker et al 1986) el índice de transformación del pienso durante esta fase fue estadísticamente similar en los cerdos restringidos y no restringidos debido a que la restricción fue muy moderada. Incluso con restricciones menos moderadas de pienso durante este periodo (próximas al 25% del consumo *ad libitum*) el índice de transformación del alimento de los cerdos restringidos no aumentó respecto al de los cerdos no restringidos (Campbell et al., 1983 ; Daza et al 2003).

Durante el periodo de posrestricción los cerdos previamente restringidos (R) consumieron más pienso (aunque de manera no significativa), exhibieron una ganancia media diaria superior ( $P < 0,05$ ) y mejoraron significativamente el índice de transformación del alimento respecto a los cerdos previamente no restringidos (NR). Estos resultados concuerdan con los obtenidos en un trabajo de Prince et al (1983) en el que se utilizó un nivel de restricción próximo al de nuestro experimento. Si embargo, Donker et al (1986) con un nivel de restricción del 15% respecto del consumo *ad libitum*, aplicado en el periodo de restricción, a cerdos con elevada capacidad de ingestión (25% superior a la de los cerdos de nuestro experimento), no observaron diferencias significativas para el crecimiento diario y el índice de transformación del alimento entre cerdos R y NR, y encontraron una reducción significativa del consumo de pienso de los cerdos R respecto a los NR durante la fase de posrestricción. La capacidad de ingestión de los cerdos utilizados puede tener influencia sobre los resultados del crecimiento compensatorio en el sentido de que los cerdos con alta capacidad de consumo exhiben aumentos menores del crecimiento diario y mejoran menos el índice de transformación del alimento durante la fase de posrestricción que los cerdos, como los de nuestro trabajo, que tienen menos capacidad de ingestión (Donker et al., 1986). Los mecanismos metabólicos involucrados en el crecimiento compensatorio son poco conocidos. Parece, que durante el periodo de realimentación las necesidades de mantenimiento de los cerdos previamente restringidos se reducen debido al menor peso de los órganos metabólicamente activos (Koong et al., 1985). De otra parte, la reducción del catabolismo de las proteínas que acontece durante la fase de restricción permanece

durante cierto tiempo en el periodo de realimentación, aspecto que ha sido observado, recientemente, por Whang et al (2003).

Considerando el periodo total de cebo de 90 días los resultados productivos de los cerdos R y NR fueron similares. Los cerdos R sólo redujeron el consumo medio diario de pienso en un 3,4% y mejoraron el índice de transformación del alimento en un 2,9%.

A pesar de estas modestas mejoras encontradas consideramos que la respuesta compensatoria a restricciones moderadas de pienso durante el periodo de crecimiento debe ser considerada por los productores con el fin de reducir el coste de producción del cerdo cebado.

**Tabla 1. Evolución ponderal (kg) de los cerdos durante el experimento según tratamiento.**

Tratamiento	Nº de cerdos	Peso inicial	Peso final restricción	Peso final cebo
R	40	30,52	57,69	99,37
NR	40	31,15	61,70	100,03
d. e. m		0,616	0,891	1,166

R = restringido ; NR = no restringido ; d. e.m = desviación estándar de la media.

**Tabla 2. Influencia del tratamiento sobre la ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario de pienso (CMDP) e índice de transformación del alimento (ITA).**

Periodo	Tratamiento	Nº de cerdos	GMD (g)	CMDP (g)	ITA (kg / kg)
Restricción 0-35 días	R	40	766,0 <sup>a</sup>	1537,1 <sup>a</sup>	2,044
	NR	40	883,8 <sup>b</sup>	1841,3 <sup>b</sup>	2,080
	d.e.m		14,2	65,5	0,034
Posrestricción 35-90 días	R	40	756,4 <sup>a</sup>	2732,8	3,554 <sup>a</sup>
	NR	40	698,2 <sup>b</sup>	2669,7	3,874 <sup>b</sup>
	d.e.m		12,3	65,7	0,087
Total 0-90 días	R	40	760,1	2268,0	2,974
	NR	40	770,4	2347,7	3,064
	d.em		9,1	50,9	0,042

R = restringido ; NR = no restringido ; d.e.m = desviación estándar de la media.  
Dentro de cada periodo, medias con distintos superíndices difieren P<0,05.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campbell, D.J ; Taverner, M.R ; Curic, D.M. 1983. Livestok Production Science, 10 : 265-272.
- Daza, A ; Rodriguez, I ; Ovejero, I ; López Bote, C.J. 2003. Spanish Journal of Agricultural Research, 1 (4) : 3-8.
- Donker, R. A ; Den Hartog, L.A ; Brascamp, E.W ; Merks, J.W.M ; Noordewier, G.J ; Buiting, G.A.J. 1986. Livestok Production Science, 15 : 353-365.
- Koong, L.J ; Ferrell, C.L ; Nienaber, J.A. 1985. Journal of Nutrition, 112: 1383-1388.
- Lovatto, P.A ; Sauvart, D ; Milgen, J Van. 2000. XXXII Journées de la Recherche Porcine en France, 32 : 241-246.
- Prince, T.J ; Jungst, S.B ; Kuhlert, A.L. 1983. Journal of Animal Science, 56 : 846-852.
- Whang, K.Y ; Kim, S.W ; Donovan, S.M ; McKeith, F.K ; Easter, R.A. 2003. Journal of Animal Science, 81 : 705-716.
- Whittemore, C. 1993. The science and practice of pig production. Ed Logman Scientific and Technical Group. UK Limited, 661 pp.
- S.A.S (1999). Institute S.A.S / Stat User's Guide. S.A.S, Cary NC.

## COMPARACION DE CURVAS DE CRECIMIENTO DE MACHOS ENTEROS, CASTRADOS Y REGENERADOS DE LA RAZA DE GALLINAS CASTELLANA NEGRA

J. A. Miguel<sup>1</sup>, B. Asenjo<sup>1</sup>, J. Ciria<sup>1</sup>, J.L. Calvo<sup>1</sup> y R. Vitto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Area de Producción Animal. E.U. Ingenierías Agrarias de Soria (Universidad de Valladolid). Campus Universitario s/n. 42004-Soria, España

<sup>2</sup> Universidad Nacional Experimental del Táchira. Venezuela

### INTRODUCCION

La práctica de la castración es una técnica que se realiza desde antiguo como forma de buscar un tipo de carne de mayor calidad organoléptica. El caponaje o castración, no es otra cosa que extirpación de las gónadas al animal mediante métodos quirúrgicos. Existe una segunda forma de realizar el caponaje que es mediante productos químicos, pero se encuentra prohibida en los países de la U. E.

El Reglamento 1538/91 CEE fija una edad mínima de sacrificio para los capones de 150 días. A esta edad los capones de estirpes pesadas pueden llegar a pesar 5 o 6 kg, pesos no comerciales para su consumo en los hogares y por esta razón se plantea la posibilidad de utilizar razas de crecimiento lento que alcancen a la edad de sacrificio pesos más adecuados para su venta y que se puedan criar en régimen extensivo, puesto que el tiempo de crianza habitual varía de 210 a 230 días aproximadamente.

La raza Castellana Negra es una raza autóctona que pasó por difíciles momentos, como ocurrió con todas las razas autóctonas, cuando se produjo la llegada de los híbridos comerciales extranjeros para la producción ultraintensiva. Se trata de una raza de gran rusticidad y resistencia a enfermedades, por lo que se considera una buena candidata para las aviculturas alternativas. Ciria *et al.*, (2002) y Miguel *et al.*, (2002), ya han presentado resultados de castración de animales de esta raza realizados en ensayos anteriores.

La castración no siempre es completa y así se observa como un porcentaje de animales castrados cambian el color rosáceo de la base de la cresta y las barbillas por un color más intenso, empiezan a emitir sonidos y se vuelven más agresivos. Estos animales se comportan de forma intermedia entre el gallo y el capón y esto debe tenerse en cuenta en los estudios sobre castración (Cubillo *et al.*, 1999) son los comúnmente llamados animales regenerados.

### MATERIAL Y METODOS

Para la realización del estudio se utilizaron 110 machos de la raza Castellana Negra identificados individualmente, los cuales se dividieron en dos lotes, uno con animales castrados (55 animales) y otro sin castrar (55 animales) que se utilizó como testigo. De los castrados 15 animales regeneraron testículos.

La castración se realizó a las 8 semanas de vida según el método descrito por Cubillo y Tor (1996), tras un periodo de ayuno de dos días antes de la intervención y previo anestesiado. Los animales se alojaron en cautividad en dos parques de 13 m<sup>2</sup> con una densidad de 4 animales/m<sup>2</sup>. Se utilizó *ad libitum* el mismo tipo de pienso comercial, con 2900 kcal/kg de EM y 19 % PB. Se controló el peso bisemanal de todos los animales desde las 4 hasta las 29 semanas.

De los animales sometidos a castración quirúrgica la mortalidad por la operación ascendió al 1,8 %.

El crecimiento bisemanal de gallos, capones y regenerados se modelizó según la fórmula de Gompertz-Laird (Laird *et al.*, 1965). Los datos se ajustaron al modelo por el procedimiento de regresión no lineal del programa informático SPSS 11.5:

$$W_t = W_0 \times \exp^{[(L/K)(1 - \exp^{-Kt})]}$$

Donde:  $W_t$ : peso vivo en un momento  $t$ .  $W_0$ : peso vivo inicial.  $L$ : máximo crecimiento relativo (por tiempo). ( $t^{-1}$ ).  $K$ : porcentaje de decrecimiento de  $L$  tras el punto de inflexión. ( $t^{-1}$ )

Del modelo se derivan los siguientes parámetros:  $t_i$  : edad en el punto de inflexión.  $W_i$  : peso vivo en el punto de inflexión.  $W_A$ : peso vivo a la madurez o peso vivo asintótico.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En las tablas 1 y 2 se recogen los parámetros estimados y derivados de la función de Gompertz-Laird para gallos, capones y animales que regeneraron testículos de la raza Castellana Negra. En la figura 1 se recogen las curvas de crecimiento estimadas según el modelo.

**Tabla 1. Estimación de parámetros con su error estándar y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) para gallos, capones y regenerados de la raza Castellana Negra.**

	$W_0$	$L$	$K$	$R^2$
Gallos	38,24 <sup>a</sup> ± 3,12	0,680 <sup>a</sup> ± 0,026	0,153 <sup>a</sup> ± 0,002	0,97
Capones	38,02 <sup>a</sup> ± 3,77	0,691 <sup>a</sup> ± 0,031	0,157 <sup>a</sup> ± 0,003	0,97
Regenerados	39,30 <sup>a</sup> ± 4,98	0,642 <sup>a</sup> ± 0,080	0,153 <sup>a</sup> ± 0,004	0,97

$W_0$ : peso vivo inicial. (g)

$L$ : máximo crecimiento relativo (por semana). ( $t^{-1}$ )

$K$ : porcentaje de decrecimiento de  $L$  (por semana). ( $t^{-1}$ )

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para  $p \leq 0,05$

**Tabla 2. Estimación de parámetros derivados del modelo para gallos, capones y regenerados de la raza Castellana Negra.**

	$t_i$	$W_i$	$W_A$	Gm
Gallos	9,87	996,67	2660,91	0,94
Capones	9,43	959,34	2611,38	0,90
Regenerados	9,37	959,83	2610,51	0,90

$t_i$ : edad en el punto de inflexión (semanas) =  $(1/K)\ln(L/K)$

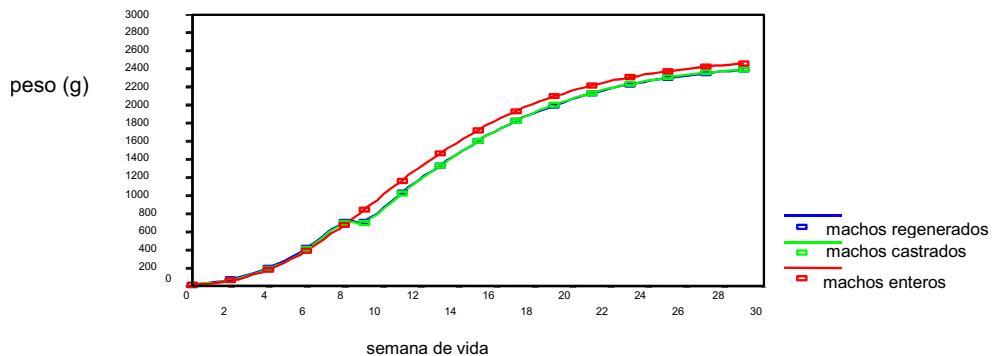
$W_i$ : peso vivo en el punto de inflexión (gramos) =  $W_0 \exp[(L/K)^{-1}]$

$W_A$ : peso vivo a la madurez (gramos) =  $W_0 \exp(L/K)$

Gm: grado de madurez a las 29 semanas =  $\text{Peso } 29 \text{ semanas} / W_A$

Ni el peso inicial ( $W_0$ ), ni el máximo crecimiento relativo por semana ( $L$ ), así como la disminución de este tras el punto de inflexión ( $K$ ) presentaron diferencias significativas. El punto de inflexión fue alcanzado ligeramente más tarde por los gallos, seguidos de los capones y los regenerados. El peso a la madurez no presentó diferencias significativas, siendo algo superior en los gallos. El grado de madurez a las 29 semanas fue ligeramente superior en los gallos que en los capones y regenerados, no habiendo diferencias entre estos dos últimos.

No ha sido posible comparar las curvas de crecimiento estimadas para los capones de la raza Castellana Negra según el modelo de Gompertz-Laird con las realizadas por otros autores por no haber sido localizada ninguna cita bibliográfica.



**Figura 1. Curvas de crecimiento de gallos, capones y regenerados de la raza Castellana Negra.**

Si comparamos los parámetros estimados según el modelo de Gompertz-Laird con los estimados por Miguel (2003) con animales enteros de la misma raza para su caracterización productiva y genética observamos que estimó valores de L en torno a 0,576 y de 0,136 para la K, siendo el peso estimado a la madurez de 2851,01 g. El mismo investigador en un segundo estudio para comparar la raza Castellana con un cruce de esta con la raza Penedesenca Negra estimó 0,635 para la L, 0,156 para la K y 2460,06 gramos el peso a la madurez. Al tratarse de estudios diferentes donde los animales han sido sometidos a manejos también diferentes, es difícil hacer una comparación de los resultados.

A la vista de los resultados se observa que la castración en la raza Castellana Negra no produce un aumento en el peso de los animales, situación que ha sido comprobada por diferentes investigadores en otras razas autóctonas como Francesch *et al.*, (1998) con la raza Prat Leonada, Sánchez (2001) con la raza Mos y Muriel (2003) con la raza Extremeña Azul. En cambio sí se encontraron diferencias de peso a favor de los capones en ensayos con la raza Penedesenca Negra y Empordanesa Roja realizados por Francesch *et al.*, (1998) y corroborados por Cubiló *et al.*, (1999) y Cubiló *et al.*, (2000).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ciria, J.; Asenjo, B.; Miguel, J.A.; Calvo, J.L.; Andrés, J. (2002).** 48<sup>th</sup> Congreso ICOMST. Roma
- Cubiló, M.D.; Tor, M. (1996).** Paper-kite, Lleida.
- Cubiló, M.D.; Tor, M.; Hernandez, H.; Francesch, A. (1999).** ITEA Volumen Extra, Número 20- Tomo I (1999) pp. 717-719.
- Cubiló, M.D.; Villalva, D.; Estany, J.; Francesch, A.; Tor, M. (2000).** XXXVII Symposium de la Sección Española de la WPSA, Barcelona. pp 167-170.
- Francesch, A.; Fortuny, M.R.; Farran, M.; García Martín, E. (1998).** Internacional Symposium Basis of the Quality of Typical Mediterranean Animal Products, Badajoz.
- Laird, A.K.; Tyler, S.A.; Barton, A.D. (1965).** Growth 29: 233-248.
- Miguel, J.A.; Asenjo, B.; Ciria, J.; De Casas, C.; Martínez, R.; Andrés, J. (2002).** 48<sup>th</sup> Congreso ICOMST. Roma
- Miguel, J.A. (2003).** Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.
- Muriel, A. (2003).** ITEA. Vol. Extra nº 24. Tomo I: 229-231.
- Sánchez, B. (2001).** Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.

## **CRECIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE GALLOS ALIMENTADOS CON PRODUCTOS PROCEDENTES DE LA AGRICULTURA ECOLÓGICA**

Muriel Durán A., García Cuadrado N.  
Finca La Orden. Dirección General de I + D + I. Junta de Extremadura.  
06187- Guadajira (Badajoz)

### **INTRODUCCIÓN**

Las explotaciones de agricultura ecológica están principalmente orientadas a la agricultura. Según los datos oficiales del MAPA del año 2003 sólo el 10% de los productores son ganaderos (1751 frente a 15277 agricultores). De los datos referidos a explotaciones ganaderas, sólo un 6% se dedican a la avicultura. En este subsector hay más granjas destinadas a la producción de huevos que a la de pollos (Sanz, 2003).

Sin embargo, las aves de corral son una forma ideal de producción de las explotaciones pequeñas. Las aves se pueden integrar en cualquier finca ecológica, sea de orientación extensiva o hortofrutícola, y pueden desempeñar una importante función como fuente de abono orgánico nitrogenado y ser un complemento para la economía familiar (Afonso, 1993).

La ganadería ecológica tiene su marco legal en el reglamento (CEE) nº 1804/1999 (DOCE, 1999) que completa el reglamento (CEE) nº 2091/1991 sobre producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios.

El reglamento (CEE) nº 1804/1999 indica que las explotaciones ganaderas ecológicas utilizarán preferentemente razas y estirpes autóctonas.

Teniendo en cuenta que desde el año 2000 la Junta de Extremadura realiza un trabajo de caracterización morfológica y productiva de la raza aviar autóctona Extremeña Azul (Muriel, 2004), el objetivo del presente estudio es mostrar los resultados obtenidos en un ensayo de producción de gallos ecológicos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se partió de 500 pollos de la raza Extremeña Azul de un día de edad que fueron divididos en dos grupos de 250 pollos (grupo ecológico y grupo control con alimentación no ecológica) y alojados en la nave de avicultura de la finca Valdesequera (Badajoz). A las 6 semanas de edad se sexaron los pollos y se trasladaron a parques en libertad 100 machos del grupo ecológico y otros 100 del grupo control.

El grupo ecológico se alimentó durante toda su crianza con un pienso ecológico, presentado en forma de harina, de 2700 kcal E.M. y 17% P.B. El grupo control recibió durante las 6 primeras semanas de vida un pienso con 3100 kcal E.M., 24% P.B. y con monensina sódica como coccidiostático. A partir de las 6 semanas, un pienso con la misma composición en materias primas que el pienso ecológico y también con monensina (ambos piensos se presentaron en harina).

Se controló el consumo de pienso durante toda la crianza y los animales se pesaron individualmente al nacimiento y durante 6 veces a lo largo de la crianza (la última, horas antes de su traslado al matadero). También se realizaron 3 muestreos de heces a cada grupo (una vez mientras estuvieron en la nave y dos durante su estancia en parques al aire libre) para su análisis coproscópico.

30 animales ecológicos y 30 animales control fueron sacrificados a los 130 días de edad y sus canales sin eviscerar fueron congeladas hasta su despiece. El



despiece se realizó siguiendo la metodología definida por la Asociación Mundial de Avicultura Científica (1984). De los pollos reservados para su despiece, de 23 del grupo ecológico y de 29 del grupo control se tomaron muestras de su aparato digestivo y respiratorio para investigar la presencia de parásitos.

Los datos han sido analizados utilizando el ANOVA del programa Statistica versión 5.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla 1** presentamos los resultados productivos en vivo obtenidos en ambos grupos. Debido a la diferente alimentación recibida durante las 6 primeras semanas de edad, el grupo control presentó un peso significativamente superior ( $p < 0,001$ ) a las 2 y 6 semanas de edad. A las 10 semanas de edad, cuando ya los dos grupos consumían un tipo de pienso que sólo se diferenciaba por la procedencia de las materias primas, seguían pesando más ( $p < 0,05$ ) los animales del grupo control pero a partir de las 15 semanas de edad no se detectaron diferencias en función de la alimentación recibida.

**Tabla 1.** Resultados productivos en vivo de los lotes ecológico y control

Ecológico				Control			
Edad (semanas)	Peso (g)	Consumo acumulado (g)	Índice de conversión acumulado	Edad (semanas)	Peso (g)	Consumo acumulado (g)	Índice de conversión acumulado
0	36,84			0	37,54		
2	90,96b	157,17	2,90	2	116,38a	157,04	1,99
6	393,81b	905,33	2,54	6	468,78a	1171,20	2,72
10	898,36b	2589,05	3,01	10	953,19a	3440,01	3,76
15	1644,82	5900,69	3,67	15	1677,11	6976,65	4,26
18	2055,91	8381,63	4,15	18	2002,91	9363,72	4,76
18 + 4 d	2064,79	8917,28	4,40	18 + 4 d	2085,58	9960,05	4,86

Letras distintas a continuación de los datos de peso tomados a la misma edad indican que las diferencias son estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ )

Para obtener pollos con un peso medio de 2 kg tuvimos que prolongar la crianza durante 18 semanas, edad a la que ya se están desarrollando los testículos y se ha iniciado la formación de espermatozoides. Los pesos vivos finales de ambos lotes son similares (con una ganancia media diaria de 15,88 g en el lote ecológico y de 16,04 g en el lote control), aunque en el lote control fueron mayores el consumo de pienso (1 kg) y el índice de conversión acumulado (4 décimas). Sin embargo, el coste de la alimentación por kilogramo de pollo producido fue superior para la producción de pollos ecológicos (1,60 euros/kg *versus* 1,25 euros/kg) dado el mayor precio de las materias primas ecológicas. La viabilidad de ambos lotes fue elevada, dado que en el grupo ecológico se registró una mortalidad del 4,4% y del 3,2% en el grupo control (todas las bajas se produjeron durante la crianza en confinamiento).

Si comparamos estos resultados con otros obtenidos en España, García (2004) recalca el problema de la obtención de materias primas ecológicas para la fabricación de piensos y su elevado coste para los discretos valores energéticos y proteicos que alcanzan. Esto contribuye a las altas conversiones alimentarias (del orden de 4 kg de pienso por kg de carne) y a un elevado coste de producción del pollo (entre 2 y 2,5 euros/kg vivo). Si consideramos que la alimentación supone un 70% de los costes de producción de pollo, en nuestro ensayo el coste de producción por cada kg de peso vivo fue 2,29 euros.

Pero si los comparamos con datos franceses, son claramente inferiores. Ermenier (2004) describe que utilizando pollos G181 y JA657 alcanzan un peso mínimo de 2,3 kg en crianzas de 91 días de duración al menos y con un índice de conversión acumulado de 3,3-3,4. Sólo son equiparables para el parámetro mortalidad si lo comparamos con el 5,5% observado, como valor medio, en 5 productores (Bouvarel y Duthil, 1998).

A las 16 semanas de edad se detectó un 33,33% de heces con coccidios en el grupo ecológico, sin significación clínica, y 0% en el grupo control. En las necropsias realizadas se observaron infestaciones por el cestodo *Choanotaenia infundibulum*, parásito de patogenicidad moderada, en el 30% de los pollos ecológicos y en el 10% de los pollos del grupo control. La intensidad media de esta infestación también fue mayor en el lote ecológico (37 ejemplares) comparada con los 13 del grupo control. Hasta ahora las parasitosis no han causado problemas clínicos en la finca Valdesequera, en lo que puede influir el programa de limpieza y desinfección que se realiza en los parques de la nave tras terminar una crianza y los prolongados vacíos sanitarios tanto de estos parques como de los localizados al aire libre.

En la **tabla 2** se muestran los resultados obtenidos tras el estudio de las canales. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, excepto para el porcentaje de muslos y contramuslos, cuando el único factor de variación era el origen de las materias primas utilizadas para la formulación de los piensos.

**Tabla 2.** Características de la canal de pollos ecológicos comparados con pollos con alimentación convencional

	<b>Ecológico</b>	<b>Convencional</b>	<b>Significación</b>
Canal eviscerada 1	68,92±0,25	68,97±0,32	NS
Grasa abdominal 1	0,81±0,07	0,85±0,09	NS
Pechuga 2	19,01±0,16	18,70±0,19	NS
Muslos+contramusl.2	36,81±0,14	36,33±0,17	*
Alas 2	11,49±0,06	11,69±0,08	NS

1 porcentaje sobre peso vivo al sacrificio; 2 porcentaje respecto al peso de la canal eviscerada;

\*= p< 0,05

Este trabajo ha pretendido contribuir a aumentar la escasa información técnica relacionada con la avicultura ecológica en España.

### **AGRADECIMIENTOS**

Este estudio pertenece al proyecto 539-JUN financiado por la Junta de Extremadura.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Afonso D. (1993). Mundo Ganadero, noviembre, p. 36-48.  
 Bouvarel I., Duthil G. (1998). Filières Avicoles, février, p. 75-81.  
 D.O.C.E. (1999). Reglamento (CEE) nº 1804/1999. DO L 222 de 24.8.1999.  
 Ermenier K. (2004). Filières Avicoles, février, p. 86-89.  
 García E. (2004). Selecciones Avícolas, abril, p. 257-259.  
 Muriel A. (2004). Archivos de Zootecnia 53: 209-212.  
 Sanz A. (2003). Mundo Ganadero, nº 152, p. 26-27.  
 WPSA European Federation (1984). Method of dissection. Ed.: J. Fris Jensen.

## CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO EN UNA POBLACIÓN DE GALLINAS DE RAZA MENORCA

Villalba, D.<sup>(1)</sup>, Francesch, A.<sup>(2)</sup>, Pons, A.<sup>(3)</sup>, Bustamante, J.<sup>(4)</sup>, Espadas, M.<sup>(4)</sup>, Santonja, V.<sup>(3)</sup>, Cubiló, D.<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Departament de Producció Animal. Universitat de Lleida (UdL). Rovira Roure, 191. 25198 Lleida.

<sup>(2)</sup> IRTA. Centre de Mas Bové. Unitat de Genètica Avícola. Apartat 415. 43280 Reus

<sup>(3)</sup> Grup de Producció Animal. Recursos Genètics Animals. Institut de Biologia Animal de Balears S.A. (IBABSA). Estació, 4. 07510 Sineu

<sup>(4)</sup> Centre de Capacitació i Experiències Agràries. Consell Insular de Menorca (CIME).

Ctra Fornells, km 2. 07700 Maó

### INTRODUCCIÓN

La raza Menorca es una raza de rusticidad media perteneciente al tipo mediterráneo y de coloración básicamente negra. Se le supone una buena aptitud para la producción de huevos y con un tamaño de huevo grande (Francesch, 1998; Catchot, 2001). Esta raza ha sido seleccionada y mejorada morfológicamente en Inglaterra (a partir de la dominación inglesa de la isla en el siglo XVIII) y es conocida en todo el mundo como raza Minorca. En la isla de Menorca se mantenía una población de la raza gracias al interés de criadores aficionados pero se desconocía su situación, número y potencial productivo. En el año 2001, se fundó la "Asociación de Gallinas Menorquinas" (ASOGAME) que en la actualidad cuenta con 43 asociados.

En el año 2004, se inició un proyecto de caracterización de la raza de gallinas Menorca. En este proyecto, financiado por un programa *Leader Illa de Menorca*, colaboran la ASOGAME, el CIME, el IBABSA, el IRTA y la UdL. El proceso de recuperación para la caracterización de la raza se ha basado en las siguientes fases:

- 1) Selección morfológica según los estándares raciales de hembras y machos de 12 orígenes diferentes y alojamiento en 10 grupos separados del resto.
- 2) Recolección de huevos producidos por los grupos seleccionados.
- 3) Cría y control productivo de los animales procedentes de la incubación de los huevos representativos de todos los grupos disponibles.

Este proceso se encuentra en fase de obtención de resultados de puesta. En esta comunicación se presentan los primeros resultados de crecimiento de la población obtenida de raza Menorca en su isla de origen.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En el proceso de formación de la población utilizada para caracterizar la población que nos ocupa, se recogieron huevos de un total de 66 gallinas procedentes de los 10 grupos, constituidos por entre 5 y 12 gallinas y 1 y 4 gallos cada uno, que habían sido seleccionados y separados en función de su morfología de entre todos los animales que existían en cada origen.

La incubación y cría de los animales se realizó en las instalaciones de "Sa Granja" del CIME. En el nacimiento, que se produjo en dos lotes, junio y julio de 2004, se obtuvieron 300 pollitos. La representación de cada grupo en la población final se situó entre el 4 y el 30% de los animales.

Un total de 108 pollos y 192 pollitas se criaron conjuntamente hasta las 4 semanas de vida en salas de cría (20-30 animales/m<sup>2</sup>), entre las 4 y 8 semanas se criaron por separado en parques interiores (4-8 animales/m<sup>2</sup>) y a partir de entonces en parques exteriores con una zona cubierta (2-3 animales/m<sup>2</sup>).

La alimentación fue *ad libitum* en todas las fases, y consistió en un pienso de cría hasta las 5 semanas (PB:19%;GB:5,1%;EM:3000 kcal/kg MS), uno de engorde entre las 5 y 16 semanas de vida (PB:17,5%;GB:6%;EM:2900 kcal/kg MS), y uno de puesta a partir de las 16 semanas (PB:15%;GB:5,3%;EM:2800 kcal/kg MS). El control de consumo se realizó por departamento pesando el pienso aportado y el rehusado de forma semanal.

Para la caracterización de la curva de crecimiento se identificó a los pollitos al nacimiento y se controló el peso vivo de forma semanal hasta las 13 semanas de vida, quincenal entre las 13 y las 21 semanas, y a las 24, 28 y 32 hasta el momento de redacción de esta comunicación. Están previstas pesadas a las 52 y 72 semanas de vida para acabar de caracterizar la curva hasta el peso adulto.

Los pesos de los animales se ajustaron a una función de Richards utilizando un modelo mixto no lineal con coeficientes aleatorios y los efectos fijos del lote de cría y sexo, mediante el procedimiento MIXED del SAS y una modificación de la macro NLINMIX como se describió en Villalba et al. (2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las curvas de crecimiento obtenidas hasta las 28 semanas para machos y hembras se presentan en la Figura 1. La función de Richards se ajusta de forma correcta a los datos obtenidos ( $R^2=0,99$ ). Las estimas de los parámetros más importantes obtenidos de la función de Richards se presentan en la Tabla 1. La curva de crecimiento obtenida por los machos es similar a la obtenida por otras razas autóctonas con valores de peso adulto superiores a la Penedesenca Negra y Empordanesa Roja, e iguales a los de la Prat Lleonada (Escoda, 2004) y también iguales a los de Castellana Negra (Miguel, 2003). El punto de inflexión a las 10 semanas es equivalente, según las referencias que preceden, al obtenido en machos de Prat Lleonada pero superior en 2 semanas a los obtenidos en Penedesenca Negra, Empordanesa Roja y Castellana Negra. Por otra parte las hembras de Menorca han mostrado un punto de inflexión muy parecido al de las hembras de Castellana. En cuanto al peso al nacimiento, el valor obtenido se sitúa por encima de los observados en las citadas razas, cosa que podría ser explicada por un mayor peso del huevo.

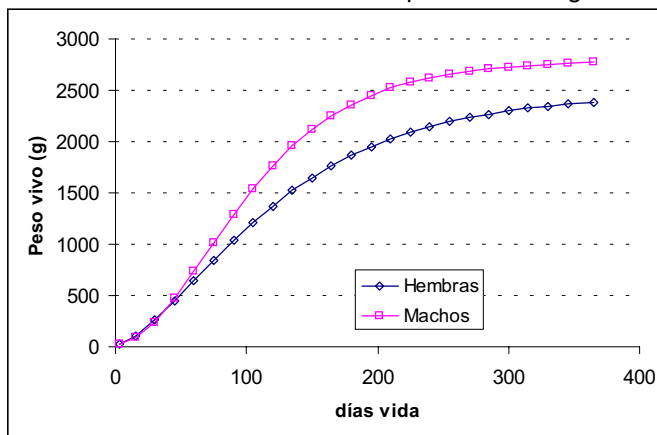
Las hembras presentaron una edad menor ( $p<0,001$ ) a los machos en el punto de inflexión (9 días menos), otros autores obtienen también una tasa de maduración más rápida en gallinas que en gallos, aunque de una magnitud algo inferior en Castellana Negra (Miguel, 2003) y claramente inferior en broilers (Knizetova et al., 1991). En cuanto al peso adulto, la diferencia entre machos y hembras (+329 g;  $p<0,001$ ) que representa un 12% del peso de los machos, está muy por debajo del resultado obtenido en la raza Castellana Negra, que fue de un 34 % (Miguel, 2003) y del obtenido en líneas broiler que se sitúa entre el 31 y 40% (Knizetova et al., 1991; Villalba et al., 2001).

Pese a que no se ha detectado un efecto del lote, se ha observado una gran variabilidad de los crecimientos individuales tanto dentro de grupo como entre grupos. Si tomamos como referencia el peso adulto estimado, el coeficiente de variación dentro de cada grupo se situó entre el 13 y el 20%.

Los machos alcanzaron un peso de 2 kg las 20 semanas de vida, con un índice de conversión de 5,3. El consumo de pienso por gallina desde el nacimiento fue 2,6 kg, 9,6 kg y 14,5 kg hasta las 8 semanas, 20 semanas y el inicio de puesta (24 semanas), respectivamente. Estos valores son similares a los obtenidos por la mayoría de razas autóctonas mencionadas anteriormente (Escoda, 2004; Miguel, 2003).

Los primeros datos de crecimiento de la población de raza Menorca que se está caracterizando nos indican un uso restringido para la producción de carne si no se efectúa selección o cruzamiento alguno.

**Figura 1.** Curva de crecimiento estimada de una población de gallinas Menorca



**Tabla 1.** Parámetros de crecimiento obtenidos a partir del ajuste de la función de Richards a los pesos de gallos y gallinas de una población de raza Menorca

	Raza Menorca	
	Hembras	Machos
Peso asintótico (g)	2466	2795
Peso en el punto de inflexión (g)	637	892
Ratio peso inflexión/peso asintótico	0,26	0,32
Edad en el punto de inflexión (d)	59	68
Tasa de crecimiento absoluta (g/d)	9	13
Tasa de crecimiento máxima (g/d)	13	19
Pesos estimados (g)		
Semana 0	44,4	44,5
Semana 4	239,8	216,4
Semana 8	593,8	661,5
Semana 12	961,3	1184,3
Semana 16	1290,6	1651,7
Semana 20	1564,9	2015,0
Semana 24	1783,9	2276,1
Semana 28	1954,2	2455,3

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Catchot, S. (2001). La gallina menorquina. Institut Menorquí d'Estudis. IME. 59 pp.
- Escoda, L. (2004). Estudio comparado de características productivas y de calidad de la canal y de la carne en pollos obtenidos de razas autóctonas catalanas. Tesis Doctoral Universitat de Barcelona.
- Francesch, A. (1998). Gallinas de raza. Pub. Arte avícola. 487 pp.
- Knizetova, H.; Hyánek, J.; Knize, B; Roubicek, J. (1991). Analysis of growth curves of fowl. I. Chickens. Br. Poultry Sci. 32(5): 1027-1038.
- Miguel, J.A. (2003). Caracterización productiva y genética de una población de gallinas de raza Castellana Negra. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.
- Villalba, D.; Cubiló, D.; Tor, M.; Solanes, X.; Molina, E.; Francesca, A.; Estany, J. (2001). Diferencias de crecimiento entre dos líneas de gallinas de raza Penedesenca Negra y un broiler. IX Jornadas sobre Producción Animal. 93-95

**AGRADECIMIENTOS:** A la *Associació de Gallines Menorquines*.  
Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto *Leader IIIa de Menorca*

## ESTUDIO DE LA PRODUCTIVIDAD DE LA CODORNIZ CINEGÉTICA (*COTURNIX C. COTURNIX*) CRIADA EN CAUTIVIDAD

Caballero de la Calle, J.R.<sup>(1)</sup>; Peña, J.C.<sup>(2)</sup>; López Fuentes, F.<sup>(1)</sup> Calle, M.I.<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> E.U. de Ingeniería Técnica Agrícola. UCLM. Ronda de Calatrava 5. Ciudad Real 13071.

<sup>(2)</sup> Excma. Diputación Provincial de Ciudad Real

### INTRODUCCIÓN

La codorniz europea (*Coturnix c. coturnix*) es la especie más emblemática de la caza menor en España durante la media veda (Puigcerver et al., 1990), a su alrededor se despliega un importante mundo socioeconómico.

La disminución del número de codornices en su medio natural debida a la influencia de diferentes factores negativos, como son, entre otros; la excesiva presión cinegética en las áreas de cría, el cambio en las costumbres migratorias de las aves, o la influencia humana sobre el medio ambiente, hace que la producción en cautividad de codorniz se esté convirtiendo en los últimos 15 años en un referente fundamental para el mantenimiento de esta actividad cinegética en España.

El destino principal de la producción en cautividad de la especie es la actividad cinegética en sus diferentes posibilidades de caza a mano, sueltas controladas o codorniz a tubo (Caballero et al., 1997). Sin embargo, debemos tener en cuenta el peligro de inclusión en el medio natural aves híbridas producto de cruzamientos con *Coturnix japonica* (Rodríguez Tejeiro et al., 1993).

Las granjas trabajan con criterios comerciales y la economía obliga a la producción de un elevado número de animales de calidad (buen plumaje y capacidad de vuelo) pero con un bajo coste económico. Esto hace que la capacidad de producción de huevos sea un parámetro fundamental para la rentabilidad. La cría en cautividad de la codorniz permite la aplicación de diferentes técnicas de selección, alimentación y prevención de enfermedades que consiguen mejorar de 3 a 4 veces la producción de huevos en condiciones naturales.

El objetivo del trabajo es determinar la productividad de la codorniz europea en cautividad y su variabilidad anual. Estas referencias son fundamentales para calcular parámetros relativos a la infraestructura y manejo de las granjas, y para conocer la potencialidad individual de esta especie cinegética en condiciones intensivas.

### MATERIAL Y METODOS

Desarrollamos nuestro trabajo en la granja de codorniz cinegética situada en la Finca "Dehesa de la Galiana" sita en el municipio de Ciudad Real y perteneciente a la Universidad de Castilla-La Mancha.

Durante cuatro años (2001-04) se realiza el seguimiento productivo de 100 parejas de codorniz europea (*Coturnix c. coturnix*). Cada pareja se sitúa en su propia jaula, por lo que no hay ninguna interferencia entre ellas y esto nos permite realizar un seguimiento individual de las mismas.

El ciclo de puesta para el total de la explotación tiene una duración de 16 semanas, y transcurre desde el mes de marzo hasta el mes de junio ambos inclusive. Los animales se emparejan y enjaulan durante el mes de Enero, utilizando el mes de Febrero para conseguir una perfecta adaptación a la pareja y al medio. Simulando así los hábitos y el comportamiento de las aves en libertad (Pérez, 1981). Tras el periodo de puesta las aves se desenjaulan y se llevan a los parques de vuelo donde se recuperan y se preparan para una próxima puesta.

Durante los cuatro años del estudio se mantienen constantes todos los parámetros de manejo en la explotación, sobre todo los referentes a la alimentación, a la iluminación o a la sanidad, que nos permite alcanzar el máximo potencial

reproductivo de la especie. La producción sigue un modelo “no restrictivo” que nos permite mantener animales de edades comprendidas entre los ocho meses y los dos años.

Entre los mecanismos biológicos que desencadenan la función reproductiva del ave, influyen factores como la luz, la alimentación, o la temperatura. Este último factor es escasamente controlable, sin embargo la iluminación y la alimentación si son fundamentales. Se incrementa el fotoperiodo mediante un programa de iluminación artificial (12-15 lux, iluminación progresiva hasta las 16 horas) a partir de Febrero. Buscamos el incremento de los resultados productivos, ya que la codorniz es un ave cuya actividad sexual se pone de manifiesto en días largos.

Se realiza un seguimiento de la puesta de cada pareja, realizando una recogida diaria de los huevos y un balance semanal del total de los individuos de la granja. En este estudio recogemos los siguientes parámetros: N° de huevos semanal, n° de huevos total, n° de parejas en puesta, n° medio de huevos/jaula y porcentaje de jaulas en puesta, utilizados para calcular valores medios de producción general e individual.

Así mismo se realiza un estudio estadístico, utilizando el programa SPSS 11.5, para valorar la variación productiva de la puesta anual, individual y colectiva, de la codorniz europea a pesar de encontrarse en condiciones controladas de manejo. De esta manera, buscamos justificar una cierta similitud de lo que le ocurre a la especie en condiciones naturales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción media anual de la explotación durante el periodo en estudio fue de 6.918,75±704,27 huevos. Se han observado diferencias significativas entre los cuatro años en estudio (Cuadro 1). Estas diferencias se deben fundamentalmente a aspectos relacionados con las dificultades de manejo que en cautividad presenta esta especie salvaje (Dalmau, 1994).

La producción media de huevos por hembra es de 70,61±8,41 huevos, en periodos de puesta de 90-110 días, encontrando variaciones anuales significativas (Cuadro 1). Sin embargo en todos los casos nos encontramos dentro de valores de 60-80 huevos/hembra y año, establecidas y consideradas como normales y que no tiene nada que ver con las producciones de la codorniz japonesa o sus híbridos (Blanco, 1995).

**Cuadro 1.** Producción media de huevos en la explotación

Año	N° de jaulas	N° de huevos/año	N° de huevos/hembra
2001		7.046 <sup>a</sup>	71,68 ± 3,81 <sup>a</sup>
2002	100	6.352 <sup>b</sup>	63,52 ± 5,72 <sup>b</sup>
2003		7.837 <sup>c</sup>	75,16 ± 6,58 <sup>c</sup>
2004		6.642 <sup>d</sup>	66,47 ± 2,40 <sup>b</sup>

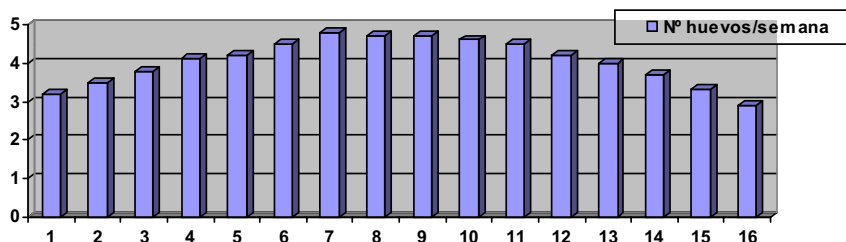
Valores con superíndices distintos denotan diferencias significativas (P < 0,01)

Por otra parte, encontramos parejas que sólo ponen 12-20 huevos con lo que se asemejan a las producciones de la especie en libertad y periodos de puesta muy cortos, (Puigcerver et al., 1995) y otras, las menos, que llegan a producir hasta 80 huevos durante todo el ciclo. En este sentido tenemos que decir, que producciones por pareja, situadas por encima de estos valores, pueden significar errores en la pureza genética del animal (González et al., 1995)

Estos datos significan que el número medio de huevos por pareja y semana en la explotación se cifra en 4,34±0,62 huevos con variaciones importantes a lo largo del

ciclo de producción. El gráfico 1 muestra la evolución de las cifras medias semanales de puesta (huevos/pareja) de las codornices en la granja. El máximo productivo por pareja se produce tras los 1-1,5 meses de puesta y se mantiene por encima de los 4 huevos/semana hasta el final del tercer mes de puesta.

**Gráfico 1.** Número de huevos medio por codorniz y semana.



Sin embargo no podemos decir que en la explotación logremos poner al mismo tiempo en producción a todas las parejas de codornices, logrando cifras medias máximas de 92,54% a lo largo del periodo en estudio. Estos porcentajes máximos de parejas en producción se logran hacia la quinta semana del ciclo de puesta, aunque la máxima producción semanal se produce en torno a la séptima o novena semana.

Si analizamos la curva de puesta a lo largo de los 4 años del estudio observamos que adquiere siempre una forma de campana de Gauss, variando anualmente sólo la posición en el tiempo según la rapidez en alcanzar la regularidad productiva de los animales y que se puede ver influenciada por las condiciones climatológicas en la explotación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco, P.J. (1995). *Zootecnia: BPA*. Tomo V. Cap. XVIII. Pp. 329-344. Mundi-Prensa. Madrid.
- Caballero de la Calle, J.R.; Peña, J.C.; (1997). *Zootecnia: BPA*. Tomo XII. Pp. 109-123. Mundi-Prensa. Madrid.
- Dalmau, A. (1994). *Manual de la codorniz. Cría industrial y para la caza*. Ed. Dilagro. Lleida.
- González, M.; Blanco, P.; Daza, A. (1995). *ITEA Vol. Extra nº 16 (1) pp. 159-161*.
- Lucotte, G. (1980). *La codorniz. Cría y explotación*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Pérez, F. (1981). *La codorniz*. Ed. Científico-Médica. Barcelona.
- Puigcerver, M. et al. (1990). *Trofeo. Nº 243 pp. 34-38*. Madrid.
- Puigcerver, M.; Rodríguez Tejeiro, J.D. (1995). *Reproducción. Trofeo nº 324 pp. 27-33*. Madrid
- Rodríguez-Tejeiro, J.A. et al. (1993). *Trofeo. Nº 277 pp. 48-52*. Madrid.



## EFFECTO DE LA DENSIDAD EN GAZAPOS DE ENGORDE SOBRE SU SUPERVIVENCIA Y CRECIMIENTO. RESULTADOS PRELIMINARES.

García, M.L., Baena, P.L., Muelas, R., Aniorte, V., Argente, M.J.  
División de Producción Animal. Dpto. Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. Ctra. Beniel km.3,2. 03312. Orihuela. Alicante.

### INTRODUCCIÓN

En cunicultura, los gazapos son engordados en jaulas de uno a dos animales en el caso de Italia (Trocino *et al.*, 2004), o en jaulas colectivas como es el caso de Francia (Morisse y Maurice, 1996) y España (Sánchez *et al.*, 2004). Sin embargo, los estudios realizados sobre el comportamiento social que presentan estos animales aconsejaría la vida en colectividad (Stauffacher, 1992).

En Europa, hasta el momento, no existe ninguna directiva europea sobre las dimensiones que deberían tener estas jaulas. Aunque en algunos países sí que existen códigos de buenas prácticas, como es el caso de Reino Unido (Codes of Recommendations for the Welfare of Livestock, 1987) que recomienda 0,07 m<sup>2</sup>/conejo desde las 5 a las 12 semanas de edad o Alemania (German Section of WRSA, 1991) que recomienda 0,04 m<sup>2</sup>/gazapo desde el destete a las 6 semanas y 0,08 m<sup>2</sup>/gazapo hasta los 3,3 kg de peso vivo. En el caso de España, la Organización Interprofesional Cunícola en su Código de Buenas Prácticas indica que los requisitos para las jaulas de engorde deberían ser 35 cm de alto y 400 cm<sup>2</sup>/gazapo ([www.intercun.org](http://www.intercun.org)).

El objetivo de esta experiencia es determinar la densidad óptima para el engorde intensivo de conejos, mediante el estudio de las características de crecimiento y de la supervivencia en el periodo de engorde.

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Material Animal:* Se controlaron un total de 820 gazapos en el periodo de engorde, repartidos en 113 jaulas diferentes. Los gazapos pertenecían a una línea de características maternales (Argente *et al.*, 1999) situada en la granja docente y experimental de la Escuela Politécnica Superior de Orihuela de la Universidad Miguel Hernández.

*Instalaciones y material ganadero:* La nave donde se alojaron los animales era de ambiente controlado. Las jaulas estaban dispuestas en 4 hileras, eran de tipo polivalente de acero galvanizado y sus dimensiones eran de 90x33x37,5 cm. Disponían de bebederos tipo chupete y comederos comunes a 4 jaulas. El reparto de pienso era diario y semiautomático, mediante tolvas correderas.

*Manejo:* El sistema de producción era semiintensivo con montas 12 días después del parto y el manejo era en bandas semanales. No se realizaron adopciones y la lactación tenía una duración de 28 días. Una vez se realizaba el destete, los gazapos pasaban a la nave de cebo donde eran colocados en cada jaula en número de 6, 7, 8 y 9 animales identificados individualmente. Los gazapos eran cebados hasta los 63 días de edad, con un peso aproximado de 1,8 kg.

*Datos:* Los gazapos eran pesados y contabilizados los días 35, 42, 49, 56 y 63 de edad. Las variables estudiadas fueron las siguientes:

$P_i$  =Peso medio por jaula en g. (i=35,42,49,56, 63)

$GD_{i,j}$  =Ganancia media diaria por jaula en g./día (i-j=35-42, 42-49, 49-56, 56-63, 35-63)

$S_{i,j}$  =Supervivencia en % (i-j=35-42, 42-49, 49-56, 56-63)

**Análisis estadístico:** Se analizaron las variables citadas anteriormente con el siguiente modelo:

$Y_{ijkl} = \mu + \rho_i + E_j + U_k + e_{ijkl}$ , donde;  $Y_{ijkl}$  = variable;  $\mu$  = media;  $\rho_i$  = densidad de animales por jaula, con 4 niveles: 36,36 kg/m<sup>2</sup> (495 cm<sup>2</sup>/gazapo), 42,42 kg/m<sup>2</sup> (424 cm<sup>2</sup>/gazapo), 48,48 kg/m<sup>2</sup> (371 cm<sup>2</sup>/gazapo), 54,54 kg/m<sup>2</sup> (330 cm<sup>2</sup>/gazapo);  $E_j$  = estación del año, con 3 niveles: primavera, verano y otoño;  $U_k$  = Ubicación de la jaula en la nave, con 3 niveles: jaula en el lado de los ventiladores, jaula en los pasillos centrales, jaulas en el lado de los cooling;  $e_{ijkl}$  = error del modelo. El procedimiento GLM del Statgraphics 4.0 fue utilizado en estos análisis.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los resultados del peso medio de los gazapos de una jaula para las diferentes densidades que se han considerado. Para ninguna semana de engorde se muestran diferencias significativas, aunque se pase de alojar 6 gazapos (36,36 kg/m<sup>2</sup>) a 9 gazapos (54,54 kg/m<sup>2</sup>) en las jaulas de engorde.

**Tabla 1.** Efecto de la densidad de la jaula sobre el peso medio de los gazapos cada semana de engorde.

Densidad (kg/m <sup>2</sup> )	Peso medio (g) de los gazapos de una jaula <sup>1</sup>				
	35 días	42 días	49 días	56 días	63 días
36,36	753 ± 23,0	973 ± 28,5	1254 ± 33,4	1498 ± 43,2	1767 ± 46,5
42,42	720 ± 25,9	940 ± 30,0	1198 ± 34,0	1448 ± 43,9	1697 ± 47,2
48,48	753 ± 27,5	964 ± 32,4	1182 ± 36,7	1465 ± 48,5	1713 ± 52,2
54,54	716 ± 28,2	933 ± 37,7	1149 ± 38,2	1435 ± 49,2	1704 ± 53,0

<sup>1</sup> Medias mínimo cuadráticas ± error estándar.

**Tabla 2.** Efecto de la densidad de la jaula sobre la ganancia media diaria de los gazapos cada semana de engorde.

Densidad (kg/m <sup>2</sup> )	Ganancia media diaria (g/día) de los gazapos de una jaula <sup>1</sup>				
	35-42 días	42-49 días	49-56 días	56-63 días	35-63 días
36,36	33,9 ± 2,58	38,1 <sup>b</sup> ± 2,66	38,8 ± 2,55	38,6 ± 3,25	36,5 ± 1,33
42,42	31,7 ± 2,87	36,1 <sup>ab</sup> ± 2,71	33,1 ± 2,59	39,1 ± 3,35	33,5 ± 1,46
48,48	30,0 ± 30,5	30,2 <sup>a</sup> ± 2,92	34,4 ± 2,86	37,0 ± 3,66	32,7 ± 1,58
54,54	30,9 ± 3,12	31,5 <sup>a</sup> ± 3,07	37,2 ± 2,90	36,8 ± 3,69	33,8 ± 1,58

<sup>1</sup> Medias mínimo cuadráticas ± error estándar. <sup>ab</sup> Diferentes superíndices indican diferencias significativas (P<0.05).

**Tabla 3.** Efecto de la densidad de la jaula sobre la supervivencia de los gazapos cada semana de engorde.

Densidad (kg/m <sup>2</sup> )	Supervivencia (%) de los gazapos de una jaula <sup>1</sup>			
	35-42 días	42-49 días	49-56 días	56-63 días
36,36	93,9 ± 2,04	85,7 ± 2,46	89,5 ± 3,32	90,5 ± 2,92
42,42	94,0 ± 2,15	89,8 ± 2,51	92,5 ± 3,37	96,9 ± 2,96
48,48	97,1 ± 2,32	91,6 ± 2,71	83,9 ± 3,73	95,8 ± 3,28
54,54	93,6 ± 2,42	91,2 ± 2,82	89,2 ± 3,78	94,6 ± 3,32

<sup>1</sup> Medias mínimo cuadráticas ± error estándar.

Cuando se estudia el carácter velocidad de crecimiento, aparece una tendencia a presentar más velocidad de crecimiento, las primeras semanas de engorde, aquellos animales que son criados en densidades iguales o inferiores a 42,42 kg/m<sup>2</sup> (Tabla 2). Esta tendencia se confirma la segunda semana de engorde, cuando aparecen diferencias significativas entre los animales que disponen de 36,36 kg/m<sup>2</sup> frente a los criados en densidades de 48,48 y 54,54 kg/m<sup>2</sup>. Sin embargo, a partir de los 49 días de engorde se produce un crecimiento compensatorio y la

velocidad de crecimiento de los gazapos es independiente de la densidad. Cuando se estudia la ganancia diaria para todo el periodo de cebo (35-63 días) de los gazapos tampoco aparecen diferencias significativas. Los pesos obtenidos son similares a los de otras líneas maternas a los 35 días de edad pero ligeramente inferiores en semanas sucesivas, mientras que la ganancia media diaria siempre presenta valores inferiores en esta experiencia (García *et al.*, 2000; García y Baselga, 2001).

Los resultados de la supervivencia semanal se presentan en la Tabla 3. Para ninguno de los periodos de engorde considerados aparecen diferencias significativas en función de la densidad de gazapos por jaula.

Los resultados obtenidos, aunque son preliminares, son comparables a los presentados por distintos autores, teniendo en cuenta que en este caso se ha trabajado con superficies destinadas a un animal ( $\text{cm}^2/\text{gazapo}$ ) inferiores a las encontradas en la bibliografía, aunque las densidades ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) sean similares. Se debe tener en cuenta que tanto en Francia como en Italia el peso vivo del gazapo para el mercado es superior (2,5-3 kg) que en España (1,8-2 kg), por tanto necesitan más superficie asignada a un animal que en el caso español. Así, Trocino *et al.* (2004) tampoco encuentran diferencias significativas ni en el peso final (2,65 Kg. aproximadamente, a los 71 días) ni en la ingestión de pienso, para 8 gazapos criados en densidades de  $42,4 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $625 \text{ cm}^2/\text{gazapo}$ ) y  $32,12 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $825 \text{ cm}^2/\text{gazapo}$ ), aunque el índice de conversión si que fue superior para las densidades más elevadas. Resultados sin diferencias significativas también presentan Verga *et al.* (2004) para el peso final (2,6 kg. aproximadamente, a los 75 días) y la ganancia diaria en el periodo de cebo en grupos de 2, 3 y 4 gazapos criados en densidades de  $24,8 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $1045 \text{ cm}^2/\text{gazapo}$ ),  $37,32 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $697 \text{ cm}^2/\text{gazapo}$ ) ó  $49,7 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $522 \text{ cm}^2/\text{gazapo}$ ), respectivamente.

Las conclusiones de este trabajo serían que los gazapos de engorde de hasta 1,8 kg de peso de mercado pueden ser criados en densidades de hasta  $330 \text{ cm}^2/\text{animal}$  sin mermar su crecimiento y sin incrementar las mortalidades en el periodo de engorde, de esta manera se maximiza el uso del espacio en la cunicultura industrial. Estos resultados son preliminares pues interesaría tener en cuenta todas las estaciones de año. Además a la hora de elegir la densidad óptima a la que deberían ser criados estos animales es necesario tener en cuenta otros aspectos como las características de canal y la calidad de la carne.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J.; Santacreu, M.A.; Climent, A.; Blasco, A. 1999. LPS. 57: 159-167.
- García, M.L.; Peiró, R.; Baselga, M. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. A, 389-395. Valencia-Spain.
- García, M.L.; Baselga, M. 2001. IX Jornadas Producción Animal, Vol. Extra, nº 22. Tomo I. 118-120.
- Morisse, J.P.; Maurice, R. 1996. 6<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 2: 425-429. Toulouse-France.
- Sánchez, J.P.; Baselga, M.; Silvestre, M.A.; Sahuquillo, J. 2004. 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 169-174. Puebla-México.
- Stauffacher, M. 1992. Animal Welfare, 1(2): 105-125.
- Trocino, A.; Xiccato, G.; Queaque, P.I.; Sartori, A. 2004. 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 1277-1281. Puebla-México.
- Verga, M.; Zingarelli, I.; Heinkl, E.; Ferrante, V.; Martino, P.A.; Luzi, F. 2004. 8<sup>th</sup> World Rabbit Congress, 1283-1288. Puebla-México.

## LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA ANIMAL PARA GESTIÓN PRODUCTIVA EN GRANJAS DE BOVINOS DE LECHE

D. Garin<sup>1</sup>, T. Pereira-Jaume<sup>2</sup> y G. Caja<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad Agronomía, Universidad de la República. Garzón 780, 12900 Montevideo.

<sup>2</sup>Médico Veterinario, ejercicio libre de la profesión.

<sup>3</sup>Producció Animal, Universitat Autònoma Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

E-mail: [dgarin@fagro.edu.uy](mailto:dgarin@fagro.edu.uy)

### INTRODUCCIÓN

La constante incorporación de diferentes tecnologías es una señal reiterada y permanente en las empresas lecheras en Uruguay. Se inicia con la adopción de tecnologías de producción a fines de los '80. En los '90 se adicionaron, en forma heterogénea, las tecnologías de captura y gestión de la información productiva para la toma de decisión (Alvarez, 2003).

En Uruguay, los controles de producción son actualmente utilizados, por técnicos y ganaderos, para establecer ajustes inmediatos en el manejo individual de las vacas en ordeño. La medición de la producción de leche de cada vaca se realiza en dos ordeños consecutivos y con frecuencia mensual. Cada registro se identifica con el número del crotal convencional del animal y se almacena transitoriamente en soportes de papel. Posteriormente se digita en planillas electrónicas para obtener indicadores productivos y orientar las decisiones. Por tanto, disponer en forma segura y rápida de los resultados de los controles tiene implicancias productivas y económicas inmediatas en la empresa lechera.

La identificación electrónica (IDE) basada en sistemas de identificación por radio frecuencia (SIRF) representa una poderosa herramienta para gestionar información y automatizar prácticas productivas (Caja et al., 1999; Dziuk, 2004). Su elevada capacidad de almacenamiento, velocidad operativa y flujo de información a los ordenadores permiten la rápida obtención de registros productivos. No obstante, es escasa la disponibilidad de información de su uso en la ganadería de bovinos de leche.

Este trabajo describe una experiencia de evaluación de la capacidad de lectura [(identificadores leídos / identificadores aplicados) × 100] y de gestión de los controles de producción en vacas de ordeño que fueron identificadas simultáneamente con un SIRF y crotales convencionales plásticos.

### MATERIAL Y METODOS

En el rebaño de 220 vacas de una granja comercial (Atalaya Sociedad Colectiva, Canelones, Uruguay) se estableció una doble identificación de los animales durante febrero de 2003.

Como testigo se planteo el método de identificación habitual en la granja; que corresponde a crotales convencionales plásticos (diferentes marcas y modelos) con buenas condiciones de lectura (por esta razón se reemplazaron 12 crotales al inicio de la experiencia). Para evaluar la identificación electrónica se utilizaron bolos cerámicos (*Rumitag*, Rumitag S.L., España) de forma cilíndrica (21 mm diámetro × 72 mm largo, 72 g), equipados con transpondedores pasivos-HDX de 32 mm y que

cumplían con normas ISO 11784 y 11785. Para la lectura se utilizó un lector portátil (*Gesreader 2*, Rumitag S.L., España), ISO compatible, con distancia de lectura entre 20 y 25 cm y equipado con una antena bastón (*Ges stick*, Rumitag S.L., España). El lector estaba provisto de dispositivos de memoria para almacenar equivalencias<sup>1</sup> en forma permanente y registros de producción en forma transitoria. La descarga al ordenador de equivalencias y de registros se realizó utilizando un *software* específico (*Gescontrol v 1.03*, Rumitag S.L., España).

El 11 de febrero/2003 se aplicaron bolos ruminales de IDE a 32 vacas secas. El operario que aplicó los bolos realizaba la tarea por primera vez y se propuso establecer el 100% de las equivalencias. El mismo operario identificó el 20 de febrero/2003 las restantes 188 vacas. En esta ocasión se procedió a definir la equivalencia tras tres intentos de lectura del bolo aplicado. Las equivalencias remanentes fueron establecidas durante el siguiente control de producción.

A partir de marzo/2003, los registros de producción se identificaron mediante la lectura del bolo de IDE desde la fosa en la sala de ordeño (diseño de espina de pescado) y se almacenaron transitoriamente en el lector.

La capacidad de lectura de ambos tipos de identificadores fue comparada tras 18 meses de la experiencia. Los animales faenados por desvieje, fueron incluidos en la capacidad de lectura. La eficiencia de lectura [(identificadores leídos / identificadores legibles) × 100] de los bolos de IDE durante los controles de producción fue analizada para los diferentes turnos de ordeño.

Los bolos de los animales faenados fueron recuperados, en la planta de faena, desde las vísceras y en tiempo real.

Los resultados fueron analizados con el Proc CATMOD de la versión 6.12 de SAS (1997). La significación de los efectos se declaró a  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El novato operario aplicó sin dificultades los bolos ruminales de IDE en el 100% de las vacas. No se observó malestar o pérdida del bienestar en los animales aplicados. El tiempo de aplicación+equivalencia fue de  $206 \pm 258$  ( $n = 32$ ) segundos para la primera fecha de aplicación. En la segunda fecha de aplicación, el tiempo de aplicación+equivalencia fue de  $51 \pm 38$  ( $n = 181$ ) segundos, aunque en 7 vacas (3,7%) se debió establecer la equivalencia posteriormente.

Cuatro vacas murieron en la granja y fueron excluidas de los resultados.

La capacidad de lectura de ambos tipos de identificadores, en 205 vacas que permanecían en la empresa a julio/2004 + 11 vacas enviadas a matadero, mostraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ; siendo de 99,5 y 89,8% para bolos ruminales de IDE y crotales convencionales plásticos, respectivamente). Los resultados en capacidad de lectura de bolos son similares a los reportados para bovinos de carne en estabulación (Caja et al., 1999; Conill et al., 2000; IDEA, 2003). La reducción de la capacidad de lectura de crotales convencionales fue ligeramente inferior al 11,4% de pérdida anual estimada por Conill et al. (2000) en ganado de carne en

---

<sup>1</sup> Equivalencia corresponde a la relación establecida en el lector entre el número de identificación contenido en el transpondedor del bolo de IDE y el crotal convencional plástico.

crecimiento, aunque continuó siendo inaceptable para las exigencias establecidas por el ICAR (2003).

La eficiencia de lectura de los bolos ruminales de IDE fue del 99,6% y no se observó efecto significativo del turno de ordeño sobre la eficiencia de lectura (Tabla 1). El tiempo de descarga de los registros del lector en el ordenador y su disponibilidad en una planilla electrónica fue de  $201 \pm 29$  segundos.

La recuperación en matadero de los bolos de IDE fue del 100% para los dos grupos de faena ( $n= 5$  y  $6$ , respectivamente). La recuperación fue supervisada por los investigadores en el primer grupo de faena, mientras que la recuperación en el segundo grupo fue realizada por el personal propio del matadero.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que el uso de bolos ruminales de IDE tiene una capacidad de lectura y eficacia de lectura en sala de ordeño superiores al 99,6%. En consecuencia, se dispone de una eficaz herramienta para la captura digitalizada de registros de producción en la propia sala de ordeño de bovinos de leche.

**Tabla 1.** Eficiencia de lectura (EL) de bolos ruminales de IDE en cada turno de captura de registros de producción.

Control	3/3/03	2/4/03	5/5/03	15/7/03	4/10/03	2/12/03	6/6/04	Total
<b>Mañana</b>								
Vacas, n	165	164	166	142	157	200	168	1162
EL, %	100	99,4	100	100	100	100	98,8	99,7ns <sup>1</sup>
Leche, l	13,4±3,8	5,8±2,2	6,9±2,4	7,8±2,7	10,4±3,3	10,2±3,5	7,1±2,7	-
<b>Tarde</b>								
Vacas, n	163	164	165	142	156	199	170	1159
EL, %	100	100	99,4	99,3	99,4	99,5	100	99,6ns
Leche, l	13,1±3,6	5,7±3,0	6,8±2,6	7,7±2,4	10,0±3,2	10,1±3,3	7,0±2,9	-

<sup>1</sup>: ns, no significativo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez J. 2003. *Agrociencia*, VII (2): 101-120.
- Caja G., Conill C., Nehring R., Ribó O. 1999. *Comp. Elec. Agric.*, 24: 45-63.
- Conill C., Caja G., Nehring R., Ribó O. 2000. *J. Anim. Sci.*, 78: 3001-3009.
- Dziuk P.H. 2004. *Anim. Reprod. Sci.*, 79: 319-322.
- ICAR (International Committee for Animal Recording). 2003. International agreement of recording practices.
- IDEA (IDentification Electronique des Animaux). 2003. Large-scale project on livestock electronic identification. Final Report. En: <http://quiro.uab.es/tracing>.
- SAS 1997. SAS/STAT user's guide: statistics. V 6.12. SAS Institute, Carry, NC

**Agradecimientos:** A Rumitag S.L. por el equipamiento y el asesoramiento de los dispositivos de identificación electrónica y al Proyecto QLK1-2001-02229 'EID+DNA Tracing'.

## **RETENCIÓN DE BOLOS RUMINALES PARA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA EN DISTINTAS RAZAS DE CABRAS ESPAÑOLAS<sup>1</sup>**

**J. Capote<sup>1</sup>, D. Martín<sup>1</sup>, N. Castro<sup>2</sup>, E. Muñoz<sup>3</sup>, J. Lozano<sup>4</sup>, S. Carné<sup>5</sup>, J.J. Ghirardi<sup>5</sup> y G. Caja<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, La Laguna.

<sup>2</sup>Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Arucas.

<sup>3</sup>Asociación Nacional de Criadores de Raza Florida, Córdoba.

<sup>4</sup>Asociación Nacional de Criadores de Raza Murciano-Granadina, Granada.

<sup>5</sup>Grup de Recerca de Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### **INTRODUCCIÓN**

Las especiales características del ganado caprino hacen que su identificación sea también motivo de tratamiento particular respecto a otras especies. Así muchas razas presentan problemas en la aplicación de tatuajes y crotales por el color oscuro de su piel, el tamaño y resistencia de las orejas (en ocasiones ausentes), comportamiento (mordeduras), y condiciones de explotación (pastoreo en bosques y matorral, corrales de malla...). Por estos motivos, muchos ganaderos prefieren usar collares o cadenas de identificación y se oponen al uso de crotales. En el Reglamento CE 21/2004 de identificación y registro de ovinos y caprinos, se autoriza la identificación del caprino con brazaletes (en la cuartilla) para uso exclusivo nacional.

La identificación electrónica del caprino ha sido objeto de diversas investigaciones con transpondedores inyectables, crotales y bolos (Caja et al., 1998, 1999; Gecele et al., 2004; Pinna et al., en prensa), en los que se ha conseguido asegurar un nivel de retención adecuado (>98%) según la recomendación de ICAR (2003) para sistemas oficiales de identificación. Sin embargo, en el proyecto IDEA en España (16625 cabras identificadas con bolos de 75 g; MAPA, 2002) se observó un nivel de pérdidas elevado (5.8%) con importantes variaciones según la raza (Saanen, 0.4%; Cruzadas, 4.7%; Murciano-Granadina, 6.1%; Guadarrama, 6.5%; Malagueña, 8.9%) y condiciones de explotación (Murcia, 5.3%; Cataluña, 8.3%). Experiencias recientes del MAPA (2005) con bolos mas pesados (80 g) señalan también pérdidas variables según la raza (Majorera, 0%; Guadarrama, 4.3%; Murciano-Granadina, 7.4%). Por el contrario el proyecto IDEA señala pérdidas de tan sólo el 0.1% en cabras de raza Serpentina y Algarvia en condiciones extensivas en Portugal y del 0.2% en Saanen en Italia (Ribó et al., 2003).

Este trabajo tiene por objeto completar la información actual sobre el empleo de distintos tipos de bolos en diversas razas caprinas españolas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se realizaron tres experiencias con un total de 1866 cabras adultas y de reposición a lo largo de tres años (2003-05), en granjas de distintas Comunidades Autónomas.

**Experiencia I:** Se utilizaron 498 cabras lecheras de las razas: Palmera (n = 310), Majorera (n = 134) y Tinerfeña (n = 54), situadas en 11 granjas de las Islas Canarias. Las cabras fueron identificadas con el mismo tipo de bolo electrónico utilizado en el proyecto IDEA (75 g, 68x21 mm; Rumitag, Barcelona) equipado con un transpondedor de 32 mm de tecnología half-duplex. En la visita a las explotaciones se

<sup>1</sup> Trabajo incluido en el proyecto europeo QLk1-2001-02229: EID+DNA Tracing

realizó una encuesta (74 preguntas) para recoger datos a fin de caracterizarlas por su sistema de producción.

**Experiencia II:** Se utilizaron 967 cabras adultas lecheras de distintas razas autóctonas españolas: Palmera (n = 275, 15 de ellas re-identificadas después de perder el bolo de 75 g; La Palma), Florida (n = 202; Córdoba) y Murciano-Granadina (n = 440; Granada) que fueron identificadas con un bolo pesado (80 g, 68×21 mm; Rumitag). Las cabras pertenecían a 3 granjas con distintos sistemas de explotación en cada una de las localizaciones. Adicionalmente, 50 cabras de raza Palmera de otra explotación en la isla de La Palma fueron identificadas con un nuevo modelo de bolo de dimensiones modificadas (73 g, 77×18 mm; Rumitag).

**Experiencia III:** Se utilizaron 401 cabras de carne de la raza Blanca de Rasquera en una granja en Tarragona, caracterizadas por un sistema de explotación extensivo, con pastoreo en matorral mediterráneo de montaña. Las cabras se identificaron con tres tipos de bolos: convencional (75 g, 68×21 mm; n = 94), pesado (80 g, 68×21 mm; n = 198) y modificado (73 g, 77×18 mm; n = 109).

Todas las aplicaciones de bolos fueron realizadas por personal previamente entrenado. La retención de los bolos se controló mediante lecturas periódicas utilizando un lector manual Gesreader 2S (Rumitag). Además de la lectura a la aplicación, se realizaron controles al día siguiente, a la semana de la aplicación y con periodicidad mensual hasta el año. Los datos se descargaron del lector mediante el programa Gescontrol para Windows (Rumitag) y se analizaron mediante el programa SAS (v. 8.2).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de pérdidas fueron variables según el tipo de bolo y la raza de cabras ( $P < 0.001$ ), tal como se recoge en la **Tabla 1**. La mayor concentración de pérdidas se produjo en todos los casos en los dos primeros meses tras la aplicación. Los mayores valores de pérdidas se observaron en las razas Palmera y Blanca de Rasquera, ambas caracterizadas por ser de tipo primitivo y explotarse en zonas de montaña y en condiciones extensivas.

**Tabla 1.** Pérdidas de distintos tipos de bolos en razas caprinas españolas (n = 1.866)

Raza	Sistema de explotación	Bolo (peso)		
		Convencional (75 g)	Pesado (80 g)	Modificado (73 g)
Palmera	Extensivo	10.3% (32/310) <sup>1</sup>	1.8% (5/275)	2.0% (1/50)
Majorera	Semi-extensivo	0% (0/134)	-	-
Tinerfeña	Semi-extensivo	0% (0/54)	-	-
Florida	Semi-extensivo	-	0% (0/202)	-
Murciano-Granadina	Semi-intensivo	-	0.2% (1/440)	-
Blanca de Rasquera	Extensivo	4.3% (4/94)	4.6% (9/198)	2.8% (3/109)
<b>Total</b>		<b>6.1% (0-10.3%)</b>	<b>1.4% (0-4.6%)</b>	<b>2.5%(2-2.8%)</b>

<sup>1</sup> perdidos/aplicados.

El efecto del sistema de explotación ( $P < 0.05$ ) se vio confirmado a partir de las encuestas de caracterización de las 11 granjas utilizadas en la raza Palmera. El valor de las pérdidas según sistemas de explotación resultó ser: intensivo (5.6%), semi-extensivo (11.7%) y extensivo (23.5%). La raza Palmera tiene un fuerte condicionamiento filogeográfico que la señala como muy diferenciada de otras razas españolas (Amills et al., 2004). Por otro lado presenta un comportamiento



asilvestrado, con frecuentes peleas y grandes saltos, resultado de haberse cruzado frecuentemente con caprinos salvajes en el pasado. En estas condiciones resulta posible que el bolo se desplace del retículo al rumen, lo que facilitaría su posterior regurgitación y expulsión, tal como han indicado Garín et al. (2003, 2005). Como se muestra en la tabla, cuando se usó un bolo mas pesado o de dimensiones modificadas, las pérdidas disminuyeron drásticamente ( $P < 0.05$ ), incluso en las cabras que perdieron previamente el bolo de 75 g, alcanzando valores adecuados de acuerdo con la recomendación de ICAR (>98%). Algo semejante ocurrió en el caso de las cabras de raza Blanca de Rasquera, aunque las diferencias entre tipos de bolos no fueron significativas. Ambas razas de cabras y sus condiciones de explotación extensiva se consideran de interés para evaluar la retención de bolos electrónicos.

Las restantes razas de cabras canarias presentaron una retención de bolos del 100%, de acuerdo con los valores obtenidos recientemente por el MAPA (2005) en la raza Majorera en una granja en Ciudad Real, lo que coincide con su comportamiento mas tranquilo y condiciones de explotación mas intensivas.

En la misma línea, las cabras de raza Florida, de temperamento tranquilo (Muñoz et al., 2004) y explotadas en condiciones semi-extensivas con media jornada diaria de pastoreo de sierra, la retención fue también del 100%.

En el caso de las cabras Murciano-Granadinas, explotadas en condiciones semi-intensivas, con pastoreo y suplementación alimenticia en la cabreriza, el bolo de 80 g presentó un valor de retención satisfactorio (99.8%), pero que contrasta con los valores obtenidos en los ensayos recientes del MAPA (2005). Posiblemente la diferencia se deba a las condiciones de explotación, aunque deberá ser confirmado.

En conclusión, todo parece indicar que el nivel de retención de los bolos electrónicos depende de sus dimensiones, raza de cabras y sistema de explotación, por lo que la elección del tipo de bolo resulta especialmente crítico en ganado caprino. Aunque los valores de retención resultan inferiores a los obtenidos en ovino y bovino, el empleo de los bolos adecuados garantiza obtener una retención >98%, de acuerdo con las recomendaciones de ICAR (2003), y que es superior a los valores de retención de los sistemas convencionales utilizados actualmente en ganado caprino.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amills M., Capote J., Tomás A., Kelly L., Obexer-Ruff G., Angiolillo A., Sánchez A. 2004. *J. Dairy Res.* 71: 257-262.
- Caja G., Peris S., Conill C., Nehring R., Roca R., Ribó O., Milán M.J. 1998. EAAP Publication No 95, Wageningen Pers, Wageningen, pp. 406-411.
- Caja G., Conill C., Nehring R., Ribó O. 1999. *Comp. Elec. Agric.* 24: 45-63.
- Garín D., Caja G., Bocquier F. 2003. *J. Anim. Sci.* 81: 879-884.
- Garín D., Caja G., Conill C. 2005. *Livest. Prod. Sci.* 92: 47-58.
- Gecele P., Marín M.P., Burrows J., Vergara R., Caja G. 2004. 13º Congreso Chileno de Medicina Veterinaria, 4-6 noviembre, Valdivia.
- ICAR, 2003. International agreement of recording practices. Roma. 297 pp.
- MAPA, 2002. Proyecto Idea España: Anexo II. [http://ie.mapya.es/Page/IE\\_Inicio.aspx](http://ie.mapya.es/Page/IE_Inicio.aspx)
- MAPA, 2005. IEMAPA. [http://ie.mapya.es/Page/IE\\_Inicio.aspx](http://ie.mapya.es/Page/IE_Inicio.aspx)
- Muñoz M.E., Sánchez M., García J. 2004. *Pequeños Ruminantes* 5: 14-16.
- Pinna W., Sedda P., Moniello G., Ribó O. *Small Rumin. Res.* (en prensa).
- Ribó O., Cuypers M., Korn C., Meloni U., Centioli G., Cioci D., Ussorio A., Veran J. 2003. IDEA Project. <http://idea.jrc.it/pages%20idea/final%20report.htm>

## EL MANTENIMIENTO DEL REFLEJO DE LA GOTERA ESOFÁGICA Y SUS EFECTOS A CORTO PLAZO (5 MESES) EN LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA DE CABRITOS DE RAZA MURCIANO-GRANADINA<sup>1</sup>

S. Carné, G. Caja y J.J. Ghirardi

Grup de Recerca de Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

La identificación electrónica del ganado caprino ha cobrado especial importancia desde la publicación del Reglamento CE 21/2004, por el que se establece la obligatoriedad de identificar el ganado ovino y caprino nacido en la UE, a partir del 9 de julio de 2005, y la utilización de la identificación electrónica a partir de 1 de enero de 2008. Se han realizado diversos proyectos de investigación en la UE sobre identificación electrónica en rumiantes, entre los que destacan los proyectos Feoga (Caja et al., 1998), AIR3-2304 (Conill et al., 2002) e IDEA (Ribó et al., 2003; San Miguel et al., 2005) sobre el uso de inyectables, crotales y bolos electrónicos. Aunque en estos proyectos los bolos han demostrado ser un dispositivo de elevada fiabilidad con retenciones medias superiores al 99%, los resultados en caprino son muy variables. Así, mientras en algunas razas y países se han observado retenciones próximas al 100%, tal como en Murciano-Granadina en España (Caja et al., 1999), Serpentina y Algarvía en Portugal (Ribó et al., 2003), Sarda en Italia (Pinna et al., 2005), los resultados medios en razas españolas no alcanzan el 98% requerido por ICAR (MAPA, 2005).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto del sistema de cría, por medio del mantenimiento del reflejo de cierre de la gotera esofágica, sobre la retención de bolos ruminales, y comparar sus resultados con otros dispositivos convencionales y electrónicos, en cabritos de recría.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 41 cabritos (10 machos y 31 hembras) de raza Murciano-Granadina nacidos en el S1GCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la UAB y destinados a la reposición. Los cabritos se identificaron al parto mediante un crotal Tip-tag (1.5 g; Azasa, Madrid) y se criaron en condiciones ad libitum con un sustituto lácteo (TECVE, Condé sur Vire, Francia) distribuido por una nodriza artificial (Industrias J. R., León), concentrado y paja. Durante la cría fueron también identificados con bolos ruminales ligeros (**B1**) con transpondedores HDX de 32 mm (13.8 g; 51x10 mm; Rumitag, Barcelona; n = 41) y crotales electrónicos HDX (4.1 g; 2.4 cm Ø; Allflex, Vitré, Francia; n = 41) de botón (pieza hembra) con una pieza macho de botón de punta metálica (1.8 g; Azasa; n = 20) o una pieza macho de banderola (1.8 g; Rumitag; n = 21). En caso de pérdida del bolo, se aplicó un segundo bolo (**B2**) de mayores dimensiones (20.1 g; 56x11 mm; Rumitag) provisto igualmente de un transpondedor HDX. A los 60 d de edad, los cabritos se dividieron en dos grupos que fueron aleatoriamente asignados a los tratamientos experimentales: destetados (**D**, n = 21) y no destetados (**ND**, n = 20), a los que se mantuvo una toma de leche al día (5 p.m.) mediante el uso de cubos con tetinas, a fin de mantener el

<sup>1</sup> Trabajo incluido en el proyecto de la UE QLk1-2001-02229 (EID+DNA Tracing).

reflejo de la gotera esofágica (Ørskov et al., 1970). A los 90 d de edad, todos los cabritos se identificaron además con dos transpondedores (15x2.8 mm, Avid, Barcelona; n = 82) inyectados subcutáneamente en la cara plantar del metacarpo de las extremidades anteriores, en posición medial y en dirección próximo-distal, quedando localizados a 1-2 cm de los huesos sesamoideos proximales, de acuerdo con la técnica propuesta por McKean en porcino (Anthony y McDaniel, 2003). Las inyecciones se realizaron por un operador entrenado y un asistente, usando jeringas desechables y un inmovilizador en V. Todos los transpondedores fueron leídos con periodicidad semanal hasta los 150 d, utilizando un lector manual (Gesreader 2S, Rumitag). Los datos fueron analizados mediante el procedimiento CATMOD de SAS v. 8.2 (SAS Inst., Cary, N. Carolina, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación de los minibolos B1 se realizó de forma rápida y segura en cabritos de más de 7 kg PV (>28 d de edad). En un caso (2.4%), se realizó un sondado preventivo tras la aplicación, a fin de asegurar que el bolo se encontraba localizado en retículo-rumen. No se observaron problemas aparentes o molestias en los cabritos tras la aplicación de los bolos. Aunque las inyecciones no presentaron problemas importantes, se produjeron casos de sangrado local (4.9%) y perforación de la piel (8.5%) en la zona de inyección, desistiendo en la aplicación en éste caso. No se produjo ninguna cojera. La aplicación de los crotales electrónicos produjo una mayor reacción de dolor que la aplicación de bolos o inyectables, pero no produjo problemas aparentes inmediatos. La retención a corto plazo (hasta una edad de 5 meses) de los distintos dispositivos de identificación ensayados se resume en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Resultados de identificación en cabritos Murciano-Granadinos (5 m de edad).

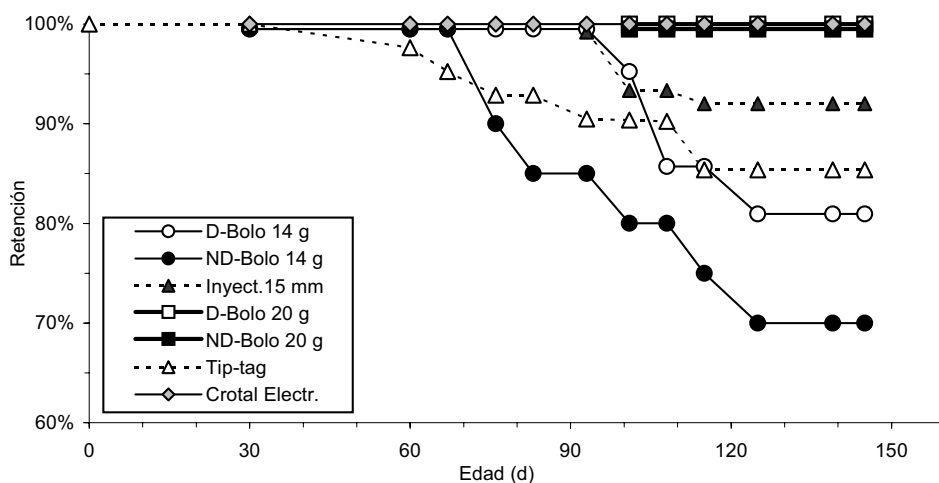
	Crotales		Bolos		Inyectables
	Tip-tag	Electrónicos	B1 (14 g)	B2 (20 g)	15 mm
n	41	41	41	10	75
Destetados	80.0	100	81.2	100	94.7
No destetados	90.5	100	70.0	100	89.1
Diferencia ( $P =$ )	0.352	-	0.418	-	0.385
Total	85.4 <sup>bc</sup>	100 <sup>a</sup>	75.6 <sup>cy</sup>	100 <sup>a</sup>	92.0 <sup>bx</sup>

Letras distintas en la misma fila indican diferencias a: <sup>x, y</sup>  $P < 0.10$  y <sup>a, b, c</sup>  $P < 0.05$ .

La evolución de la retención de los bolos en el tiempo pareció indicar que la prolongación de la cría afecta a la retención de los bolos, aunque el bajo número de pérdidas observado hasta la fecha en B1 no permitió establecer una diferencia significativa ( $P = 0.418$ ). Esto fue debido al mantenimiento del reflejo de la gotera esofágica indicado por Ørskov et al. (1970). Las diferencias desaparecieron al reponer los bolos perdidos con B2, lo que indica la importancia de las dimensiones del bolo para garantizar su retención en caprino.

A la misma edad, las pérdidas de los crotales tip-tag fueron del 14.6% y de un 8.0% en los inyectables, no habiendo diferencias ( $P < 0.05$ ) entre ambos tratamientos. Los resultados de pérdidas en inyectables son similares a los señalados por Abecia et al. (2004) en corderos de 28 d, si bien el tamaño de los inyectables fue en este caso de 11 mm, e indican una mayor dificultad de aplicación en el metacarpo respecto a otros lugares anatómicos previamente ensayados en ovino y caprino (Fonseca et al., 1994; Caja et al., 1998; Conill et al., 2002).

**Figura 1.** Evolución de la retención de dispositivos de identificación en cabritos



El 83% de las pérdidas se produjeron durante la primera semana post-implantación, de forma similar a lo indicado por Conill et al. (2002) y Abecia et al. (2004). Todas las pérdidas se confirmaron por palpación, no detectándose ninguna rotura o fallo electrónico. Los crotales electrónicos no presentaron pérdidas ni fallos, pero se registraron un 4.9% de infecciones y un 17.1% de reacción tisular (7.3% grave y 9.8% leve) que se mantuvo a los 5 meses de edad.

Como conclusión, el mantenimiento del reflejo de la gotera esofágica parece influir en la retención de bolos ruminales, lo que puede estar relacionado con el sistema de cría en las explotaciones y la estereotipia de mamado posterior al destete. Los resultados con los bolos B2 y crotales electrónicos deberán ser confirmados con un mayor número de animales y periodo de tiempo. En cualquier caso, las retenciones de los crotales tip-tag, bolos B1 e inyectables de 15 mm en el metacarpo, desaconsejan su utilización en la práctica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abecia J.A., Valares J.A., Forcada F., Palacín I., García L. 2004. Pequeños Rumiantes 5:10-14.
- Anthony R.H., McDaniel H.A. 2003. EZID facts <http://www.gao.gov/highlights/d03780high.pdf>
- Caja G., Ribó O., Nehring R. 1998. Livest. Prod. Sci. 55:279-289.
- Caja G., Conill C., Nehring R., Ribó O. 1999. Comp. Electr. Agric. 24: 45-63.
- Conill C., Caja G., Nehring R., Ribó O. 2002. J. Anim. Sci. 80: 919-925.
- Fonseca, P.D., Roquete, C.R., Castro, J.L., Condeço, A.G., Fernandes, J.V. 1994. UE DG VI-FEOGA, Research Project, Final Report, Vol. II, Exp. UE-03/2.2., 13 pp.
- MAPA 2005. [http://ie.mapya.es/Page/IE\\_Inicio.aspx](http://ie.mapya.es/Page/IE_Inicio.aspx)
- Ørskov E.R., Benzie D., Kay R.N.B. 1970. Br. J. Nutr. 24: 785-795.
- Pinna W., Sedda P., Moniello G., Ribó O. 2005. Small Rumin. Res. (en prensa).
- Ribó O., Cuypers M., Korn C., Meloni U., Centioli G., Cioci D., Ussorio A., Veran J. 2003. <http://idea.jrc.it/pages%20idea/final%20report.htm>
- San Miguel O., Caja G., Nehring R., Miranda F., Merino J.A., Almansa V., Lueso M.J. 2005. EAAP publication No 113. p. 357-359.

## **EFFECTOS DEL TAMAÑO Y DEL LUGAR DE INYECCIÓN EN LA CAPACIDAD DE LECTURA Y MIGRACIÓN DE TRANSPONDEDORES PARA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA EN CERDOS IBÉRICOS**

**M. Hernández-Jover, G. Caja, X. Alabern, D. Garín y B. Farriol**  
Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### **INTRODUCCIÓN**

Los sistemas convencionales de identificación animal (crotales plásticos o metálicos, muescas y señales en las orejas, tatuajes en las orejas, marcas al fuego) no resultan en la práctica satisfactorios para el cerdo Ibérico, dadas las condiciones extensivas y duración de su ciclo de explotación. La identificación electrónica mediante transpondedores inyectables se ha sugerido como una alternativa de interés, en el caso del cerdo ibérico, dado el interés por la trazabilidad y certificación de sus productos. Lambooij et al. (1995) y Stärk et al. (1998) estudiaron la inyección subcutánea de transpondedores en diferentes posiciones en cerdo blanco, recomendando la utilización de la oreja. Sin embargo, los ensayos realizados por 'Aeceriber' (Asociación Española de Cerdo Ibérico) indican elevadas pérdidas, problemas de migración y dificultades de recuperación en matadero (E. Dieguez, comunicación personal). El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos del lugar de inyección y del tamaño del transpondedor, en los resultados de lectura y migración en cerdos ibéricos.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron 48 cerdos ibéricos (25 machos y 23 hembras) de la variedad 'Lampião entrepelado'. Los lechones, nacidos en la finca 'Valdesequeras' (Zafra, Badajoz) del Servicio de Investigación Agraria de la Junta de Extremadura, fueron trasladados a los 4 meses (30 kg PV) a la granja del S1GCE (Servei de Granges y Camps Experimentals) de la UAB en Bellaterra. Una vez superado el estrés del transporte, los lechones fueron separados por sexos, castrados (machos y hembras) y asignados aleatoriamente a los tratamientos de identificación. Cada lechón fue identificado con cuatro transpondedores inyectables colocados en distintas posiciones corporales: base de oreja (**BO**), arco ciliar (**AC**), axila (**AX**) y metatarso (**MT**). Se utilizaron transpondedores inyectables half-duplex (Tiris, Almelo, Holanda), encapsulados en cristal biocompatible, de dos tamaños: **23 mm** (23 × 3.8 mm; n = 83) y **32 mm** (32 × 3.8 mm; n = 106). Las inyecciones se realizaron en condiciones no estériles, mediante una pistola inyectora (Tiris) con agujas acanaladas de uso múltiple (60 × 4.8 mm) y desinfección tópica con Betadine (Braunol, Jaén).

Los machos se mantuvieron en cochiqueras de piso enrejillado, mientras que las hembras se alojaron en un cercado con arbolado (12 m<sup>2</sup>/cerda). La alimentación consistió en ray-gras deshidratado ad libitum (13% PB) y un concentrado comercial para cebo (2-5 kg/d según edad). Los controles de lectura de los transpondedores se realizaron utilizando un lector portátil (Hokofarm, Insentec, Marknesse, Holanda) posteriormente a la inyección (día 1) y semanalmente hasta el sacrificio.

La medidas de migración se realizaron utilizando el método de restitución fotográfica indicado por Caja et al. (1998). Para ello se utilizó un equipo de rayos X

portátil (Model X803g, MinXray Inc., Northbrook, USA) realizando radiografías a los 7, 15, 30, 45, 90 y 140 d post-inyección, en todos los cerdos y, además, a los 200 d en las hembras. La distancia entre el punto de inyección y el punto medio del transpondedor, fue corregida según el tamaño e inclinación del transpondedor.

Los machos fueron sacrificados a los 9 meses de edad (aproximadamente 90 kg PV), mientras que las hembras fueron sacrificadas a los 17 meses (110 kg PV). El sacrificio se llevó a cabo en el matadero de Sabadell (Barcelona) en una línea de baja velocidad en la que se midió el tiempo de recuperación de los transpondedores.

Las distancias de migración y el tiempo de recuperación se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS v.8.2. (SAS Inst. Inc. Cary, USA). La capacidad de lectura se analizó con un modelo Logit y el procedimiento CATMOD de SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó ninguna infección destacable, ni efectos negativos sobre la salud de los animales, debido a la inyección de los transpondedores, de acuerdo con lo previamente indicado por Conill et al. (2000; 2002) y Caja et al. (2002) en vacuno, ovino y porcino. La capacidad de lectura (**Tabla 1**) no varió según el sexo o el tamaño de transpondedor. Las pérdidas de transpondedores hasta los 140 d fueron inferiores ( $P < 0.05$ ) en BO (6.4%) respecto al resto de posiciones (AC, 36.2%; AX, 20.8%; y MT, 21.3%;  $P > 0.05$ ). A los 200 d de inyección, en el grupo de hembras, las pérdidas aumentaron ( $P < 0.05$ ) para AC (41.7%) y AX (29.2%), mientras que no variaron para BO (4.2%) y para MT (25.0%).

Las pérdidas observadas en esta experiencia para BO son similares a las obtenidas por Lambooij et al. (1995), cuyos valores variaron entre 1.6-6.9% e inferiores a las obtenidas por Caja et al. (2002), con el mismo tipo de transpondedores, en lechones blancos de menor edad (46.3%). En contra de lo esperado, las pérdidas en AX fueron superiores a las obtenidas en ovino (5.5%; Conill et al., 2002) o en vacuno (1.7%; Conill et al., 2000), como consecuencia de las diferencias en tamaño y de las características de su tejido epitelial. Se registraron roturas de transpondedores inyectados en AC (4.3%) y MT (2.1%) hasta los 140 d post-inyección. No se observaron roturas en las otras posiciones y en el grupo de las hembras después de los 140 d. Los valores de roturas son similares a los indicados por Caja et al. (2002) en base de oreja en porcino (2.5%), pero superiores a los de bovino (0.3%; Luini et al., 1996; Conill et al., 2000). La mayor capacidad de lectura se obtuvo en BO ( $P < 0.05$ ), tanto a 140 d (93.6%; machos y hembras) como a 200 d de inyección (95.8%; hembras), lo que resulta comparable a los obtenidos en BO en porcino (88-98%; Lambooij et al., 1995) y en ovino (96.2%; Caja et al. (1998).

**Tabla 1.** Efecto de la posición y el tiempo transcurrido después de la inyección en la capacidad de lectura de transpondedores inyectables en cerdos ibéricos.

Posición de inyección	9 meses (machos y hembras)				17 meses (hembras)			
	n	Pérdidas (n, %)	Roturas (n, %)	Capacidad lectura (%)	N	Pérdidas (n, %)	Roturas (n, %)	Capacidad lectura (%)
Base oreja	47	3 (6.4) <sup>a</sup>	0	93.6 <sup>a</sup>	24	1 (4.2) <sup>a</sup>	0	95.8 <sup>a</sup>
Arco ciliar	47	17 (36.2) <sup>b</sup>	2 (4.3)	59.6 <sup>b</sup>	24	10 (41.7) <sup>b</sup>	0	58.3 <sup>b</sup>
Axila	48	10 (20.8) <sup>b</sup>	0	79.2 <sup>c</sup>	24	7 (29.2) <sup>b</sup>	0	70.8 <sup>ab</sup>
Metatarso	47	10 (21.3) <sup>b</sup>	1 (2.1)	76.6 <sup>bc</sup>	24	6 (25.0) <sup>ab</sup>	1 (4.2)	70.8 <sup>ab</sup>

<sup>a, b, c</sup>: letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas a  $P < 0.05$ .

A los 140 d post-inyección, la capacidad de lectura obtenida en AC (59.6%) fue inferior ( $P < 0.05$ ) a la de AX (79.2%) y MT (76.6%). En el grupo de hembras, no se observaron diferencias entre posiciones de inyección. Los resultados en AX fueron inferiores que los obtenidos por Conill et al. (2000, 2002) en vacuno (98%) y ovino (94.5%).

La evolución de las distancias de migración se ha resumido en la **Tabla 2**. Todos los valores observados fueron bajos y en todos los casos, la migración fue inferior a la longitud de la aguja de inyección. La distancia de migración fue diferente según la región corporal y el tamaño del transpondedor. En todas las posiciones, los transpondedores de 32 mm migraron más ( $P < 0.05$ ) que los de 23 mm. La distancia media de migración en BO (39.4 mm) fue superior ( $P < 0.05$ ) a la del resto de posiciones, que no difirieron entre ellas (33.9-36.0 mm). El tiempo de recuperación de los transpondedores fue elevado y superior ( $P < 0.05$ ) en AC (106  $\pm$  13 s) que en BO (48  $\pm$  12 s) y AX (63  $\pm$  13 s). El tiempo en MT (74  $\pm$  14) no difirió del resto

Los resultados obtenidos demuestran que ninguna de las posiciones de inyección subcutánea estudiadas puede ser recomendada para la identificación del cerdo ibérico debido a las pérdidas y las dificultades de recuperación que no fueron compatibles con la velocidad de sacrificio de los mataderos de porcino.

**Tabla 2.** Distancias de migración de transpondedores inyectados subcutáneamente en distintas posiciones en cerdos ibéricos según la posición corporal y el tiempo transcurrido desde la inyección.

Posición y tamaño del transpondedor	Tiempo después de la inyección (d)							Media $\pm$ ES
	7	15	30	45	90	140	200	
<b>Base de oreja (BO)</b>								
32 mm	44.7	45.9	45.4	40.6	41,6	45,4	36,4	43.4 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>
23 mm	33.8	33.1	36.7	30.5	35,6	40,4	41,3	34.7 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
<b>Arco ciliar (AC)</b>								
32 mm	33.9	41.4	38.1	38.4	35,7	43,9	46,9	39.3 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>
23 mm	32.2	33.5	37.4	34.1	37,8	43,0	20,5	34.1 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>
<b>Axila (AX)</b>								
32 mm	29.6	30.0	29.1	45.5	67,6	48,3	72,9	37.9 $\pm$ 2.9 <sup>a</sup>
23 mm	21.0	20.3	23.7	19.2	37,7	33,5	63,1	25.8 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>
<b>Metatarso (MT)</b>								
32 mm	39.4	39.4	39.9	48.3	54,8	43,7	69,5	44.1 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>
23 mm	24.6	24.6	32.2	25.4	27,1	38,3	30,6	28.3 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>: letras distintas para cada posición indican diferencias significativas a  $P < 0.05$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caja G., Ribó O., Nehring R. 1998. Livest. Prod. Sci. 55: 279-289
- Caja G., Hernández-Jover M., Garín D., Conill C., Alabern X., Farriol B., Ghirardi J. 2002. J. Anim. Sci. Vol. 80, Suppl. 1. p.180.
- Conill C., Caja G., Nehring R., Ribó O. 2000. J. Anim. Sci. 78: 3001-3009.
- Conill C., Caja G., Nehring R., Ribó O. 2002. J. Anim. Sci. 80: 919-925.
- Lambooij E., Langeveld N.G., Lammers G.H., Huiskes J.H. 1995. Vet. Quart. 17:118-123.
- Luini M., Andreoni D., Vezzoli F., Camisasca S., Belloli A., Brugola L. 1996. Selezione Veterinaria, 8 pp.
- Stärk K.D.C., Morris R.S., Pfeiffer D.U. 1998. Livest. Prod. Sci. 53:143-152.

## **COMPARACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN EN LA CRÍA EXTENSIVA DE CERDO IBÉRICO, DEL DESTETE HASTA LA EVISCERACIÓN**

Valdelvira, J.J.<sup>1</sup>, Santamarina, C.<sup>2</sup>, Averós, X.<sup>2</sup>, Gosálvez, M.<sup>2</sup> y Babot, D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios Porcinos de Cataluña, 25138 Torrelameu, Lleida

<sup>2</sup>Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25198 Lleida,

### **INTRODUCCIÓN**

La producción porcina intensiva moderna debe contar, a nivel mundial, con un único sistema de identificación de los animales que permita, tanto a los implicados en la cadena productiva como a las autoridades veterinarias, tener un control adecuado de los censos y de los movimientos de animales. Esta tendencia viene marcada por la Unión Europea (van Houwelingen, 1991; Nieuwenhuijsen, 1991) y es cada vez más solicitada por el consumidor.

En el cerdo Ibérico, la legislación exige que el sistema de identificación refleje el número de explotación y el de lote (RD 1083/2001 de 5 de octubre), pero, el uso de sistemas electrónicos de identificación individual puede presentarse como una manera viable y segura de controlar cada animal desde su destete hasta el sacrificio.

El ánimo de este trabajo es presentar unos primeros resultados de testar el crotal electrónico, con dos tecnologías distintas (Half Duplex y Full Duplex), desde el destete hasta la evisceración, comparándolo con el identificador habitual, que es el crotal plástico.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se han utilizado 235 lechones ibéricos de una explotación de cría extensiva. Los sistemas de marcaje utilizados fueron crotales convencionales y electrónicos, aplicados aleatoriamente a los lechones. Además todos los animales se identificaron con un tatuaje en la oreja izquierda, mediante una tatuadora rotativa y tinta verde.

Todos los crotales eran redondos de tipo botón plástico. La parte hembra era de tres tipos: convencional (CC), electrónico con transpondedor half-duplex (CE HDX) y electrónico con transpondedor full-duplex (CE FDX), mientras que el botón macho fue el mismo para todos (vástago de plástico con punta de acero), y reflejaba el número de la explotación, el lote y el número individual. Los crotales se aplicaron con una crotaladora tipo universal (Total tagger, Allflex Europe, SA). Los animales se identificaron, al momento del destete (35 días de vida), y durante la cría en granja se realizaron 3 controles, uno a la salida de transición (95 días de vida, momento en el que salen a campo), otro a mitad del engorde (8 meses de vida), y el tercero al final del engorde (12 meses de vida). A un grupo de los animales que llegaron al final del engorde se le hizo el seguimiento en el transporte y proceso de matanza. Los identificadores de este último grupo fueron revisados en el momento de la carga, tras el aturdido-degollado y tras la evisceración (Sacrificio), momento en el que se les cortaban las orejas. Previamente a su aplicación se comprobó el funcionamiento de todos los identificadores electrónicos, y en todos los controles en granja se anotó su persistencia y su legibilidad, mediante lectores portátiles ISO.

Los datos de persistencia y legibilidad se analizaron mediante el procedimiento CATMOD del paquete estadístico SAS v 8.2 (SAS Inst. Cary, NC), para detectar diferencias entre identificadores. En el modelo se incluyó el tratamiento, el sexo del lechón y su interacción. En los casos en que no aparecieron pérdidas o fallos (todos los valores igual a 1), para poder realizar las comparaciones entre identificadores, se hizo una simulación añadiendo un 0 a la columna.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los identificadores se comprobaron en el momento de su aplicación y a las 24 horas, sin ninguna pérdida ni ningún fallo de lectura de crotales.

Tras el análisis estadístico se observó que ni el sexo ni su interacción influyeron sobre el tratamiento, por lo que fueron suprimidos del modelo. En la tabla 1 se presentan los resultados del seguimiento de los distintos identificadores. Se observó que tras el periodo de transición (60 días post-identificación) y las dos primeras lecturas de engorde (208 días), no se produjo ninguna pérdida de los crotales, y únicamente se observaron fallos de lectura en los CE HDX (2,6 y 1,4% respectivamente); no existieron, en cuanto a la trazabilidad, diferencias estadísticamente significativas entre los tres identificadores, por lo que, hasta ese momento los resultados son válidos para asegurar la trazabilidad y coinciden con lo hallado por Stárk *et al.* (1998) y Caja *et al.* (2002) en cerdo blanco, con un periodo de seguimiento similar. Al final del engorde y el momento del transporte a matadero (12 meses), fue cuando apareció un mayor número de pérdidas de crotales (4.3% FDX) y de fallos electrónicos (23.4% HDX vs. 6.5% FDX), alcanzándose unos resultados más elevados que lo hallado por Caja *et al.* (2002). Vistos los resultados puede deducirse que la capacidad de lectura de los crotales electrónicos disminuye considerablemente al acercarse al año de aplicación, especialmente en los CE HDX.

Analizando el periodo de granja más el transporte, no aparecieron pérdidas del crotal convencional, mientras que el porcentaje de pérdidas más fallos electrónicos fue de 23,4% HDX y 10.8% FDX, valores provocados principalmente por las pérdidas y fallos electrónicos en el último periodo de engorde. Las pérdidas en matadero fueron prácticamente nulas, únicamente se contabilizó la de un crotal convencional, mejorando los resultados de otros autores, aunque con un mayor número de animales seguidos.

Tras todo el periodo de estudio se aprecia que el porcentaje máximo de trazabilidad lo presentan los crotales convencionales, seguidos de los CE FDX (96.6 vs 88.4%;  $p > 0.05$ ). Comparando los CC con los CE HDX aparece una diferencia estadísticamente significativa (96.6 vs. 76.6%:  $p < 0.05$ ), sin embargo, comparando las dos tecnologías, el peor resultado lo hallamos con los CE HDX (76.6%) aunque en este caso sin significación.

De todo esto se deduce que el crotal convencional se mantiene como el mejor sistema de identificación para asegurar la trazabilidad seguido del CE FDX, mientras que con el CE HDX se consiguen resultados peores. Sin embargo, por las muchas ventajas que puede aportar el control electrónico de los animales ibéricos, criados de forma extensiva, creemos que es necesario profundizar en el estudio de este tipo de identificadores.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el Proyecto INIA CAL02-015. Así mismo queremos agradecer su colaboración a la finca "La Contienda", gestionada por la Caja de ahorros "El Monte".

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caja, G., Hernández-Jover, M., Garín, D., Conill, C., Alabern, X., Farriol, B., Ghirardi, J. 2002. The use of ear tags and injectable transponders for the electronic identification and traceability of pigs. 2002 ADSA/ASAS/CSAS Joint Meeting. Quebec, July 21-25.
- Nieuwenhuijsen, H. 1991. International control and fraud tracing. En: Automatic electronic identification systems for farm animal. E. Lambooij (Ed), Report CEE. Serie: Agriculture. Nb. Eur 13198. Bruxelles. p. 87-89.

Stärk, K.D.C., Morris, R.S., Pfeiffer, D.U. 1998. Comparison of electronic and visual identification systems in pigs. *Livestock Production Science*, 53:143-152.

Van Houwelingen, P. 1991. Review of existing identificatin systems. In: *Automatic electronic identification systems for farm animals*. E. Lambooij (Ed), Report CEE. Serie:Agriculture. Nb. Eur 13198. Bruxelles. p. 7-12.

**Tabla 1.** Comportamiento de los crotales electrónicos y convencionales en los lechones ibéricos.

	CC	CE HDX	CE FDX
<b>Nº Animales</b>			
Inicio	78	79	78
Fin Transición	77	79	77
1ª Lectura Engorde	74	78	77
2ª Lectura Engorde	71	74	73
Fin engorde	66	71	65
Fin granja + transporte	33	47	46
Sacrificio	30	42	38
<b>Fin de Transición % (n)</b>			
Pérdidas	0	0	0
Fallos electrónicos	-	2,6 (2)	0
<b>1ª Lectura engorde % (n)</b>			
Pérdidas	0	0	0
Fallos electrónicos	-	0	0
<b>2ª Lectura Engorde % (n)</b>			
Pérdidas	0	0	0
Fallos electrónicos	-	1,4 (1)	0
<b>Fin Engorde % (n)</b>			
Pérdidas	0	0	0
Fallos electrónicos	-	7,0 (5)	1,5 (1)
<b>Fin Granja+Transporte % (n)</b>			
Pérdidas	0	0	4,3 (2)
Fallos electrónicos	-	6,4 (3)	4,3 (2)
<b>Total Granja + Transporte % (n)</b>			
<b>Total pérdidas</b>	0	0	4,3 (2)
<b>Total fallos</b>	-	23,4 (11)	6,5 (3)
<b>Total pérdidas + fallos</b>	0	23,4 (11)	10,8 (5)
<b>Sacrificio % (n)</b>			
Pérdidas	3,3 (1)	0	0
Fallos electrónicos	-	0	0
<b>Total pérdidas + fallos</b>	3,3 (1)	0	0
<b>Total Granja + Transporte + Sacrificio % (n)</b>			
Pérdidas	3,3 (1)	0	4,6 (2)
Fallos electrónicos	-	23,4 (11)	7,0 (2)
<b>Total pérdidas + fallos</b>	3,3 (1)	23,4 (11)	11,6 (5)
<b>TRAZABILIDAD (%)</b>	96.6 <sup>a</sup>	76.6 <sup>b</sup>	88,4 <sup>ab</sup>

<sup>a,b,c</sup> : diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas a  $P < 0.05$

## **COMPARACIÓN DE CROTALES Y TRANSPONEDORES INYECTABLES ELECTRÓNICOS FULL Y HALF-DUPLEX PARA EVALUAR LA TRAZABILIDAD EN PORCINO**

**C. Santamarina<sup>1</sup>, M. Hernández-Jover<sup>2</sup>, D. Babot<sup>1,3</sup>, G. Caja<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25191 Lleida

<sup>2</sup> Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra

<sup>3</sup> Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida

### **INTRODUCCIÓN**

La identificación electrónica como sistema de identificación individual en porcino se plantea como un buen método para contribuir de forma positiva a la gestión de los animales (Artmann, 1999), para mejorar la seguridad en el comercio intracomunitario de animales (Caja et al., 2000) y para reducir los errores que se producen en la captación y transferencia de datos de los sistemas convencionales (Austin, 1995).

El objetivo de este estudio es comparar dos tipos de identificadores (crotales electrónicos y transponedores inyectables) y dos tecnologías de intercambio de información (Half Duplex: HDX; Full Duplex: FDX) para evaluar si alguno de ellos se perfila como un sistema eficaz para garantizar la trazabilidad en la especie porcina desde el animal vivo a la canal.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Un total de 790 lechones (405 ♂ y 385 ♀) procedentes del cruzamiento Pietrain x (Landrace x Large White) se identificaron con diferentes sistemas de identificación electrónica de dos tecnologías de intercambio de información (HDX y FDX). Los lechones pertenecían a una explotación de producción de ciclo cerrado, donde se criaron en condiciones intensivas desde su nacimiento hasta el final del periodo de engorde. Finalmente, los animales fueron transportados en un camión específico para el transporte de cerdos que cumplía con la normativa de la Comisión Europea (Directiva 95/29/CE), siendo posteriormente sacrificados en un matadero comercial situado a 200 km de la explotación de origen.

La identificación de los animales se llevó a cabo después del destete, cuando los lechones se encontraban en los corrales de transición. Cada lechón se identificó con tres sistemas de identificación diferentes: 1) crotal convencional (CC) en la oreja derecha (n = 790); 2) crotal electrónico HDX (CEH, n = 369) o FDX (CEF, n = 397) en la oreja izquierda; y, 3) transponedor inyectable HDX (IH, 32 mm, n = 392) o FDX (IF, 34 mm, n = 387). El botón macho de los crotales utilizados fue en todos los casos de tipo botón plástico con vástago de plástico y punta de acero. Para la aplicación de los crotales se utilizaron aplicadores manuales de tipo universal recomendados por el fabricante. Los transponedores inyectables (IP) se aplicaron en la región intraperitoneal siguiendo el protocolo propuesto por Caja et al. (2002). Para garantizar la sanidad en la identificación las agujas utilizadas se desinfectaban posteriormente a cada inyección y la zona de inyección era desinfectada con una solución antibiótica en spray. La presencia de los identificadores y el funcionamiento de los mecanismo electrónicos se comprobó en el momento de la aplicación, durante el proceso de crecimiento-engorde (control a la entrada y salida de engorde) y durante el procesado en matadero (control al inicio y al final de la cadena de sacrificio y eviscerado). Para los controles electrónicos se emplearon unidades de lectura portátiles ISO (Gesreader 2S, Gesimpex Com, Barcelona, España;), procediéndose a comprobar los fallos de lectura con lectores ISO alternativos

(Lector SLX15, Cromasa, Navarra, España; y, Lector Agrident, Barsinghausen, Alemania).

El estudio estadístico de los datos obtenidos (pérdidas de dispositivos y fallos electrónicos de lectura) se realizó mediante un modelo Logit con el procedimiento CATMOD del programa SAS v 8.2 (SAS Inst. Inc. Cary, NC), con la finalidad de detectar efectos y diferencias significativas entre los identificadores y tecnologías empleados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ante todo hay que indicar que no se detectó ningún efecto negativo sobre la salud, bienestar o rendimiento de los animales que pueda atribuirse al procedimiento de identificación; produciéndose una mortalidad a lo largo de todo el periodo de granja del 4.7%. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos durante el periodo de granja y transporte hasta la entrada de los animales en el matadero. Puede verse que durante el periodo de producción en granja y transporte no se produjo ninguna pérdida de CC, obteniéndose así un 100% de trazabilidad. Los dispositivos electrónicos con mayor capacidad de lectura fueron los IF (98.3%) y los de menor los CEH (95.7%), sin encontrar diferencias entre CEF (97.7%) y IH (97.9%) y el resto. Las pérdidas de crotales electrónicos fueron similares a las obtenidas por Babot et al. (2004; 3.8 %), inferiores a las obtenidas por Caja et al. (2002; 8.8 %) y superiores a las obtenidas por Stärk et al. (1998; 0%) y Huiskes et al. (2000; 0.2%) con crotales de características similares. Estas diferencias pueden ser debidas a las características diferenciales entre dispositivos y a las características constructivas de las explotaciones en que se llevaron a cabo los diferentes experimentos. En promedio, se obtuvo un 2.3% de fallos electrónicos para los crotales electrónicos; valor superior al 0.4 % obtenido por Caja et al. (2002) y al 0.7% obtenido por Babot et al. (2004).

**Tabla 1.** Capacidad de lectura de los diferentes sistemas de identificación en la especie porcina durante los periodos de granja y transporte.

	CC	CE		IP	
		HDX	FDX	HDX	FDX
Nº animales, n					
Inicio transición	790	369	397	392	387
Fin granja y transporte	700	346	342	337	353
Granja y transporte, % (n)					
Pérdidas	0	0.3 (1)	1.8 (6)	2.1 (7)	1.7 (6)
Fallos electrónicos	-	4.1 (14)	0.6 (2)	-	-
TOTAL	0	4.3 (15)	2.3 (8)	2.1 (7)	1.7 (6)
Capacidad de lectura, %	100 <sup>a</sup>	95.7 <sup>c</sup>	97.7 <sup>bc</sup>	97.9 <sup>bc</sup>	98.3 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup>: diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas a  $P < 0.05$

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos durante el periodo de sacrificio, así como los resultados globales obtenidos desde la granja hasta el final de la cadena de sacrificio. Durante el procesado en matadero las pérdidas de crotales tienden a incrementarse respecto a lo obtenido en granja. Así, las pérdidas mayores llegaron a ser para CEF con un 16.7%, valor muy superior ( $P < 0.05$ ) a las pérdidas obtenidas con CC (4.3%) y CEH (2.9%). Los fallos electrónicos durante el procesado en matadero fueron escasos y sólo se presentaron para CEH con un valor de 0.9%. Como era de esperar, los transpondedores inyectados intraperitonealmente no

resultaron afectados a lo largo de la línea de sacrificio. Finalmente y en la línea de sacrificio se recuperó el 86.6% de los inyectables intraperitoneales; el resto no pudo recuperarse pero se garantizó que ningún inyectable permaneciera en la canal al final de la línea de sacrificio.

**Tabla 2.** Capacidad de lectura de los diferentes sistemas de identificación en la especie porcina durante el proceso de sacrificio y trazabilidad total.

	CC	CE		IP	
		HDX	FDX	HDX	FDX
Nº animales, n					
Animales sacrificados	700	346	342	337	353
Sacrificio, % (n)					
Pérdidas	4.3 (30)	2.9 (10)	16.7 (57)	0	0
Fallos electrónicos	-	0.9 (3)	0	0	0
TOTAL	4.3 (30)	3.8 (13)	16.7 (57)	0	0
Capacidad de lectura, %	95.7 <sup>b</sup>	96.2 <sup>b</sup>	83.3 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
Granja, transporte y matadero					
Total pérdidas y fallos	4.3 (30)	8.1 (28)	19.0 (65)	2.1 (7)	1.7 (6)
Trazabilidad, %	95.7 <sup>b</sup>	91.9 <sup>c</sup>	81.0 <sup>d</sup>	97.9 <sup>ab</sup>	98.3 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c</sup>: diferentes letras en la misma línea indican diferencias significativas a  $P < 0.05$

Al considerar los resultados globales puede verse que los mayores valores de trazabilidad se obtuvieron con los transpondedores inyectados intraperitonealmente (98.1% en promedio), aunque no se encontraron diferencias significativas entre los IH (97.9%) y los CC (95.1%). Los crotales electrónicos mostraron los valores de trazabilidad más bajos (CEF, 81.0%; y, CEH, 91.9%;  $P < 0.05$ ).

En conclusión, los crotales convencionales y los transpondedores inyectados intraperitonealmente parecen ser un sistema fiable para mantener la trazabilidad de la especie porcina en condiciones comerciales.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Artmann, R. 1999. Electronic identification systems: state of the art and their further development. *Comp. Elec. Agric.*, 24: 5-26.
- Austin, R. 1995. Fine for beasts but what about staff? In: *Farmers' weekly* 10 Feb., 45.
- Babot, D., Hernández-Jover, M., Caja, G., Santamarina, C., Ghirardi, J.J. 2004. *J. Anim. Sci.*, Vol 82 (Suppl. 1):142 (Abstr.).
- Caja, G., Conill, C., Garín, D. 2000. Identificación electrónica aplicada a la trazabilidad del ganado porcino. *Solo Cerdo Ibérico*. 4: 45-60.
- Caja, G., M. Hernández-Jover, D. Garín, C. Conill, X. Alabern, B. Farrío & J. Ghirardi, 2002. *J. Anim. Sci.* 80 (Suppl.1):180 (Abstr.).
- Huiskes, J.H, G.P. Binnendij & H.J.A. Diepstraten, 2000. Practical value of ear tags with transponder and corresponding equipment for identification and registration of pigs. *Praktijkonderzoek Varkenshouderij, Proefverslag nummer P 1.252*. p. 6-7.
- Stärk, K.D.C., Morris R.S. & Pfeiffer D.U, 1998. *Livest. Prod. Sci.* 53: 143-152.

## **LECTURA DINÁMICA DE CERDOS EN CRECIMIENTO UTILIZANDO TECNOLOGÍA ELECTRÓNICA**

D. Babot, J. Casaponsa, C. Santamarina, M. Hernández-Jover<sup>1</sup>, J. Gallardo  
Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25198 Lleida, España.  
<sup>1</sup> Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de  
Barcelona, 08193 Bellaterra, España.

### **INTRODUCCIÓN**

La identificación individual de los animales es un proceso que empezó a ser necesario cuando tuvo lugar la domesticación del ganado. Así, se ha convertido en una herramienta útil para facilitar el manejo, el control, el seguimiento y la buena gestión de los animales de granja.

Hasta los años 90, la investigación de los sistemas de identificación ha venido motivada por los programas de mejora genética y por los planes de saneamiento de las diferentes especies animales (Madec *et al.*, 2001). Al producirse la eliminación de las fronteras entre los países de la Unión Europea (1993) surgió la necesidad de desarrollar un sistema de identificación único que permitiera un mayor control de los animales destinados al comercio intercomunitario y la trazabilidad (Van Houwelingen, 1991; Nieuwenhuijsen, 1991).

En las últimas décadas se han venido utilizado los sistemas de identificación electrónica y de captación automática de datos con el fin de controlar parámetros productivos y de facilitar el manejo de animales alojados en grupo. Existen estudios que han usado estos sistemas para controlar el consumo alimentario de los animales mediante estaciones automáticas de alimentación (Perez-Muñoz *et al.*, 1998), así como para el control de pesos (Ramaekers *et al.*, 1995) y para la detección de cerdas en celo (Houwens y Lokhorst, 1992). Una apuesta de futuro es el uso de la captación automática de datos en procesos de lectura dinámica de animales identificados con transponedores.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la funcionalidad de diferentes equipos de lectura dinámica utilizados en cerdos en crecimiento y engorde identificados con distintos dispositivos electrónicos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 376 animales LW-LD x Duroc (261 ♂ y 261 ♀) de una granja comercial, para poder evaluar el comportamiento de diferentes equipos de lectura dinámica (antena + unidad de lectura) utilizados para detectar el paso de los cerdos identificados con diferentes dispositivos electrónicos (crotal o inyectable).

#### **Identificación de los animales**

Los animales fueron identificados mediante crotales electrónicos en oreja derecha (CE) o con identificadores inyectables intraperitoneales (IP) de tecnologías Full Duplex (FDX) y Half Duplex (HDX).

Se utilizaron 88 CE FDX (Ø 26mm; 4,6 g de peso) y 96 CE HDX (Ø 25 y 4,2 g de peso). Los inyectables utilizados fueron 96 FDX-B (34 mm; Ø 4 mm) y 96 HDX (32 mm; Ø 4 mm).

El proceso de identificación se realizó todo al mismo tiempo y con los mecanismos de aplicación recomendados, siguiendo el protocolo descrito en Caja *et al.* (2002).

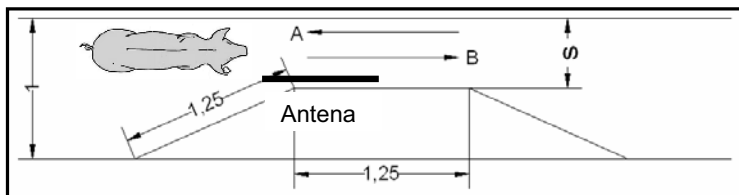
### Lectura dinámica de dispositivos

Se realizó una prueba de lectura dinámica en granja durante la fase de engorde, cuando los cerdos tenían 150 días de vida (n=376). En la Tabla 1 se muestran el número de animales y dispositivos de lectura dinámica que se utilizaron en cada caso.

**Tabla 1.** Distribución de muestreo con los equipos de lectura e identificadores en cada caso

Antena	CE		IP		Total
	FDX	HDX	FDX	HDX	
<b>Equipo 1.</b> Antena 124 cm x 74 cm	16	24	24	24	88
<b>Equipo 3.</b> Antena 120 cm x 60 cm	24	24	24	24	96
<b>Equipo 4.</b> Antena 40 cm x 60 cm x 30 mm	24	24	24	24	96
<b>Equipo 5.</b> Antena 60 cm x 50 cm x 25 mm	24	24	24	24	96
<b>Total</b>	88	96	96	96	376

Para poder facilitar el proceso de lectura de los animales fue necesaria la construcción de una manga de manejo formada por tres elementos de 1,25 m de largo y 0,8 m de alto (Figura), ello permitió ajustar anchura libre para que los cerdos pasaran uno detrás de otro. Después de ensayar diferentes posiciones la manga se ajustó a una anchura de paso de 32 cm. Tal como se muestra en la figura cada antena se colocó en posición vertical de forma paralela a la línea de paso de los animales para que el campo de la antena cubriera la zona de paso de los animales. Para cada uno de los dispositivos de identificación y de lectura se formaron grupos de 4 animales que se hacían pasar en las dos direcciones posibles de forma repetida (4 a 6 veces). En todos los casos se realizaron el 50% de las pasadas en dirección A y el otro 50% en dirección B.



**Figura 1.** Esquema de manga de manejo utilizada en las lecturas dinámicas

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el ensayo realizado con animales de engorde se recogen en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Frecuencias de lectura por cada identificador, antena y dirección de paso

Antena	Dirección	CE		IP	
		HDX	FDX	HDX	FDX
<b>Equipo 1.</b> Antena 124 cm x 74 cm	A	25%	0%	100%	0%
	B	83,3%	0%	100%	0%
<b>Equipo 3.</b> Antena 120 cm x 60cm	A	0%	0%	100%	0%
	B	0%	0%	100%	0%
<b>Equipo 4.</b> Antena 40 cm x 60 cm x 30 mm	A	0%	16,6%	0%	91,6%
	B	25%	66,6%	0%	91,6%
<b>Equipo 5.</b> Antena 60 cm x 50 cm x 25 mm	A	91,6%	66,6%	100%	91,6%
	B	91,6%	83,3%	100%	66,6%

En la Tabla 2 puede verse que respondieron mejor los identificadores inyectables que los crotales electrónicos, obteniendo una frecuencia media de lectura del 59% y del 34% respectivamente. Hay que señalar que en este caso se consiguió un 100 % de frecuencia de lectura con los IP-HDX, y que para los demás tipos de identificador (CE-FDX, CE-HDX e IP-FDX) la frecuencia de lectura máxima se aproxima al 92%.

Los resultados también ponen de manifiesto que en presencia de crotales existe una influencia importante de la dirección de paso de los animales, obteniendo resultados superiores cuando el identificador pasa más cerca del equipo de lectura (dirección B). Estas diferencias se amortiguan en el caso del equipo 5, con resultados similares en las dos posiciones de paso (entre 87,50% y 85,42% en ambas direcciones de paso), y cuando los animales están identificados con IP (60,41% dirección favorable frente a 57,29% en dirección desfavorable).

Por otro lado, se puede ver también que existen equipos que funcionan mucho mejor con tecnología FDX (Equipo 4), otros funcionan mejor con tecnología HDX (Equipos 1 y 3) y otros manifiestan un resultado homogéneo con las dos tecnologías (Equipo 5). En algunos casos, los equipos son sólo eficientes con una de las dos tecnologías (Equipo 1 y Equipo 4).

En la interpretación de todos estos resultados preliminares hay que tener en cuenta que han sido obtenidos en condiciones de campo y por lo tanto pueden haber existido influencias externas que no han podido ser controladas y que pueden haber reducido la eficiencia de los equipos (estructuras de cerramiento, equipos metálicos,...) y afectado de forma diferencial a los diferentes equipos (contaminación magnética, interferencias,...).

En base a los resultados obtenidos en este estudio puede concluirse que las diferencias en eficiencia de lectura de los diferentes equipos con los diferentes identificadores (tecnologías y posición corporal) son importantes. En todo caso los resultados son también esperanzadores, dado que se obtuvieron unas frecuencias de lectura elevadas por lo que respeta a algunos equipos e identificadores. Así, parece sensato indicar la necesidad de seguir investigando en la línea de la utilización de la tecnología electrónica para el seguimiento y control de los cerdos manejados en grupo durante las fases de crecimiento y engorde.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caja, G., Hernández-Jover, M., Garin, D., Conill, C., Alabern, X., Farriol, B., Ghirardi, J. (2002) The use of ear tags and injectable transponders for the electronic identification and traceability of pigs. 2002 ADSA/ASAS/CSAS Joint Meeting. Quebec July 21-25.
- Houwers, W. I Lokhorst, K. (1992) Automatic oestrus detection – An aid for the pig breeder. Pigs, 8: 3, 26-27.
- Madec, F., Geers, R., Vesseur, P., Kjelden, N., Blaha, T. (2001) Traceability in the pig production chain. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz., 20 (2): 523-537.
- Nieuwenhuijsen, H. Th. (1991). International control and fraud tracing. En: Automatic electronic identification systems for farm animals. E. Lambooi (Ed), Report CEE. Serie: Agriculture. Nb. EUR 13198. Bruxelles. p. 87-89.
- Perez-Muñoz, F.; Hoff, S. J. I Van Hal, T (1998) A quasi ad-libitum electronic feeding system for gestating sows in loose housing. Computers and Electronics in Agriculture, 19: 277-288.
- Ramaekers, P.J.L., Huiskes, J.H., Verstegen, M.W.A, Hartog, L.A. den, Vesseur, P.C., Swinkels, J.W.G.M (1995) Modern techniques for automatic determination of body weight of growing finishing pigs housed in groups. Übersichten zur Tierernährung, 23:2, 215-228.
- Van Houwelingen, P. (1991) Review of existing identification systems. In: Automatic electronic identification systems for farm animals. E. Lambooi (Ed), Report CEE. Serie: Agriculture. Nb. Eur 13 198. Bruxelles. p. 7-12.



## ANÁLISIS ECONÓMICO DE UN SISTEMA DE LECTURA DINÁMICA DE IDENTIFICADORES ELECTRÓNICOS EN UNA EXPLOTACIÓN PORCINA

J. Casaponsa, D. Babot, C. Santamarina.

Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 25198 Lleida.

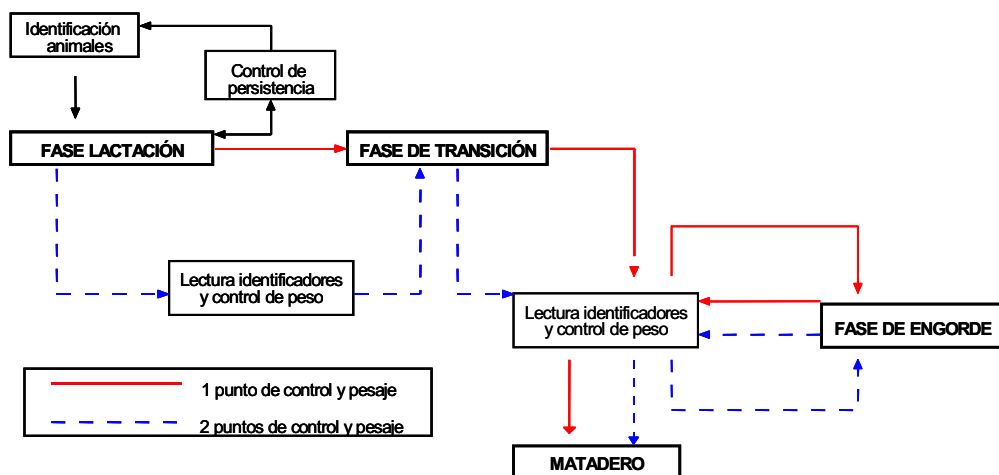
### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de monitorización integral (lectura dinámica, control automático de peso,...) presentan un potencial de mejora de la eficiencia productiva y de la calidad del control de las explotaciones. Además, esto puede ayudar a los productores a afrontar la presión que ejerce el consumidor en temas de trazabilidad del producto. Por otro lado, los sistemas de captación automática de datos pueden permitir la reducción de los errores de anotación de los datos, así como una disminución de la mano de obra necesaria para realizar los controles.

El objetivo del presente trabajo es valorar el coste económico de los sistemas de lectura dinámica y controles de peso considerando variaciones de coste de acuerdo a las posibilidades existentes en el mercado. Al mismo tiempo, para que sea más representativo, se realiza la comparación con los sistemas de identificación y control que se han utilizado hasta ahora.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para poder valorar la magnitud del extra-coste productivo (€/kg) que supone la instalación de un sistema de trazabilidad y/o lectura dinámica de identificadores electrónicos En la situación presentada en la Figura 1 se ha valorado el coste que supone la identificación y la realización de 1 ó 2 controles de peso de los animales y la lectura dinámica de los identificadores electrónicos.



**Figura 1.** Diagrama del ciclo productivo y de los controles de peso y de las lecturas dinámicas de los identificadores.

Se ha supuesto el caso de una explotación de ciclo cerrado de 900 madres, con una producción anual de 17181 cerdos año según los datos de rendimiento promedio de las explotaciones españolas (BD-Porc, 2003) y se ha partido de dos situaciones para poder realizar comparaciones y valorar el extra-coste económico y la rentabilidad del sistema:

- Una doble identificación con crotales convencionales (CC)
- Una doble identificación con un crotales convencional y un identificador electrónico (crotales electrónico (CE) o inyectable intraperitoneal (IP)).

En el cálculo del extra coste económico se han considerado los precios de los identificadores y equipamientos que aparecen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Coste de los identificadores ISO y de los equipos utilizados

<b>Elementos de la instalación</b>	<b>Coste (€/ud)</b>
Crotal convencional (botón macho + botón hembra)	0,225
Crotal electrónico HDX <sup>1</sup> (botón macho + botón hembra)	4,73
Crotal electrónico FDX <sup>2</sup> (botón macho + botón hembra)	2,71
Identificador inyectable HDX	3,72
Identificador inyectable FDX	2,60
Lector de mano	450
Lector estacionario rendimiento medio	1000
Procesador	1200
Báscula de pesaje individual	3000

<sup>1</sup>: Half Duplex (HDX); <sup>2</sup>: Full Duplex (FDX)

En los dos casos se han tenido en cuenta las pérdidas que se producen durante el ciclo productivo (Babot *et al.*, 2004), incrementando el coste mediante el coste de reidentificación si ésta se producía durante la fase de lactación y con una penalización por pérdida de información si tiene lugar en las otras fases del ciclo. El valor de la penalización considerado fue la mínima reducción de precio que imponen los mataderos por menor calidad de la carne (0,012 €/kg).

Por lo que respecta a los sistemas electrónicos se ha considerado una penalización del coste productivo derivada de la ineficiencia de los lectores utilizados para la lectura dinámica de los identificadores (Tabla 2), imponiendo el mismo valor de penalización que por la pérdida de identificadores (0,012 €/kg).

**Tabla 2.** Eficiencia de los equipos de lectura utilizados en la lectura de diferentes identificadores electrónicos.

<b>Equipo de lectura</b>	<b>Eficiencia de lectura (%)</b>			
	<b>Crotal electrónico</b>		<b>Inyectable Intraperitoneal</b>	
	<b>HDX</b>	<b>FDX</b>	<b>HDX</b>	<b>FDX</b>
Equipo lectura medio	42,78	37,50	75,00	45,84
Equipo lectura óptimo	100,00	83,33	100,00	91,67

Se ha considerado que todas las faenas en las que fuera necesaria mano de obra adicional podrían ser realizadas por dos operarios, con un coste horario de 6 €.

Finalmente se ha realizado un análisis de sensibilidad en función del precio de compra de los identificadores. Partiendo de la hipótesis de la disminución del precio (de 2 a 0,5 €/ud), ya sea por estrategia comercial o por intervención estatal o comunitaria.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Al identificar los animales mediante dos crotales convencionales (Tabla 3) el incremento de coste productivo asciende a la cantidad de 0,0056 €/kg de peso vivo, donde el valor de los identificadores representa el 82% del coste total. Al mismo tiempo al realizar los controles de peso y lecturas dinámicas el valor se incrementa respecto al coste de identificación, entre 0,0011 y 0,0023 €/kg, en función del número de puntos de control instalados. Este incremento se explica por el hecho de que al utilizar este sistema de identificación el coste de la mano de obra es elevado

debido a la necesidad de limpiar los crotales sucios para poder leer el número identificador, representando entre 26,69 – 32,87% valor total.

**Tabla 3.** Incremento del coste productivo (€/kg) en función del tipo de identificador, número de puntos de control.

Tipo de identificador	Nº puntos de control	Coste por kg de carne (€/kg)	
		Lector óptimo	Lector medio
<b>Crotales convencionales (CC/CC)</b>	0	0,00560	0,00560
	1	0,00670	0,00670
	2	0,00790	0,00790
<b>Crotal electrónico FDX (CC/CE-FDX)</b>	0	0,03246	0,03246
	1	0,03490	0,04040
	2	0,03740	0,04840
<b>Crotal electrónico FDX (CC/CE-HDX)</b>	0	0,05149	0,05149
	1	0,05190	0,05880
	2	0,05240	0,06620
<b>Inyectable FDX (CC/IP-FDX)</b>	0	0,03004	0,03004
	1	0,03150	0,03700
	2	0,03290	0,04400
<b>Inyectable HDX (CC/IP-HDX)</b>	0	0,04198	0,04198
	1	0,04150	0,04450
	2	0,04190	0,04800

Al identificar los animales mediante los identificadores electrónicos el coste de aplicación de los mismos supone un incremento del coste productivo importante, oscilando entre 0,03004 y 0,05240 €/kg. Este hecho se debe, principalmente, al elevado precio de los identificadores electrónicos, representando entre un 95 y un 97% del incremento total.

Al realizar los controles, se puede observar que el coste productivo experimenta un ligero aumento debido al valor de los equipamientos usados, así como la penalización por ineficiencia de los lectores. El extra-coste oscila entre 0,0370 y 0,0588 €/kg al realizar sólo un control y entre 0,0440 y 0,0662 €/kg al hacer dos. Por otro lado el extracoste aumenta entre un 7 y un 33% al utilizar un equipo de lectura de eficiencia media frente al equipo óptimo.

En conclusión,

- El coste más importante en un sistema de lecturas dinámicas es el precio de los identificadores, representando d'entre el 64 y el 95% del coste total.
- Los sistemas electrónicos suponen un coste mucho más elevado que los sistemas convencionales, pero los primeros permiten una mayor automatización del sistema, así como un mejor seguimiento de la trazabilidad del animal durante toda la cadena productiva.
- Los sistemas de captura automática de datos permiten reducir el coste de mano de obra de una explotación.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Babot, D.; Hernández-Jover, M.; Caja, G.; Santamarina, C. y Ghirardi, J.J. (2004) J. Anim. Sci Vol 12, Sup 1:142.
- BD-PORC. (2003). Banc de Dades de Referència del Porcí Espanyol amb. <http://bdporc.irta.es/informes/PartPublica/datos%20públicos%20Año%202003.htm>

## ANÁLISIS COMPARADO DE COSTES DE LA IDENTIFICACIÓN CONVENCIONAL Y ELECTRÓNICA DEL BOVINO EN ESPAÑA<sup>a</sup>

C. Saa<sup>1</sup>, M.J. Milán<sup>1</sup>, G. Caja<sup>1</sup>, J.J. Ghirardi<sup>1</sup>, O. San Miguel<sup>2</sup>, A. Ruiz<sup>3</sup> y M.J. Lueso<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

<sup>2</sup>Tragsega, Madrid.

<sup>3</sup>Subdirecció General de Ordenació y Buenas Prácticas Ganaderas, MAPA, Madrid.

### INTRODUCCIÓN

La publicación el pasado año del reglamento de la UE referente a la identificación y registro de los animales de las especies ovina y caprina, así como la reciente publicación de un informe de la Comisión Europea (COM(2005) 9 final) sobre la posible introducción de la identificación electrónica para animales de la especie bovina, hacen pensar en la próxima modificación del Reglamento CE 1760/2000 que regula en la actualidad el sistema de identificación y registro de los bovinos. El mencionado informe pone de manifiesto las deficiencias de los sistemas vigentes (altas pérdidas de las crotales, falta de actualización de los registros y retrasos en el mantenimiento de la base de datos) y considera que un sistema de identificación electrónica (e-ID) de los animales puede contribuir a mejorar el sistema, permitiendo una lectura más rápida y precisa, así como una transferencia automática de los registros a las bases de datos. Ante esta perspectiva, el objetivo del presente trabajo consiste en evaluar y comparar los costes de tres estrategias de identificación de bovinos incluyendo la utilización de la e-ID.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se consideró el total de la cabaña bovina española, utilizando datos del año 2002 (MAPA, 2005). A partir del censo total de hembras adultas (2.148.900 y 1.258.000, destinadas a la producción de carne y leche, respectivamente), y suponiendo una fertilidad del 60 y 90%, una mortalidad perinatal (previa a la identificación) del 3 y 5%, y una reposición del 12,5 y 25%, para carne y leche, respectivamente, se estimó que es necesario identificar 2.499.491 animales/año. El número total de explotaciones bovinas fue de 196.640 (INE, 2005) y el número total de mataderos homologados por la UE de 158 (MAPA, 2005).

Las estrategias de identificación evaluadas fueron:

- CID**, identificación convencional utilizando dos crotales de poliuretano con un código único por animal (1 € cada uno y 6% de pérdidas anuales);
- e-CID**, identificación electrónica utilizando un crotal electrónico (2,2 € y 3% de pérdidas anuales) y un crotal convencional, ambos con el mismo código de identificación;
- e-BID**, identificación electrónica utilizando un bolo ruminal (2,5 € y 0,03% de pérdidas anuales) y un crotal convencional, ambos con el mismo código de identificación.

Los componentes del coste total calculados fueron: 1) Dispositivos necesarios para la identificación inicial. 2) Dispositivos necesarios para la reidentificación durante la

---

<sup>a</sup> Trabajo incluido en el proyecto FAIR 5-QLK1-CT-2001-02229 "EID+DNA Tracing" de la Unión Europea.

vida productiva; en caso de reidentificación, el coste de los dispositivos incluyó un sobreprecio por la fabricación especial de un dispositivo con el mismo código que el original y los costes del envío a la granja (crotal convencional: 5,5 €; crotal electrónico: 9,1 €; y bolo ruminal: 10,0 €). 3) Mano de obra para la identificación, reidentificación y registro (0,3 €/minuto). 4) Registro de movimientos de los animales; estimado a partir de MAPA (2002) en un total anual de 10.584.874, incluyendo entrada y salida de la granja y un inventario anual. 5) Lecturas en matadero; para cada animal se consideraron 3 lecturas en e-CID y e-BID, y 2 lecturas en CID. 6) Recuperación de los dispositivos en el matadero. 7) Implementación y mantenimiento de una base de datos nacional, semejante en todas las estrategias y estimado a partir de la información disponible sobre SIMOGAN (Noticias infoagro, 2003), que es la base de datos actualmente operativa para bovino en España. 8) Amortización de los equipos necesarios.

Los tiempos necesarios para las distintas actividades se muestran en la **Tabla 1**. Los equipos considerados fueron un aplicador de crotales por explotación (30 €) y un ordenador personal (1.500 €) cada 100 explotaciones para las tres estrategias. Además, en e-BID se añadió un aplicador de bolos (55 €), y en e-CID y e-BID un lector manual (380 €) por explotación, un lector estático (1.900 €) cada 100 explotaciones y 3 lectores estáticos por matadero. La amortización fue en 5 años, excepto para los ordenadores que fue en 3 años. Los cálculos fueron realizados utilizando el programa Microsoft Excel 2000.

**Tabla 1.** Tiempos requeridos para las actividades asociadas a la identificación y registro de los bovinos, según la estrategia considerada (min/animal)

	CID	e-CID	e-BID
Identificación y registro inicial	3,0	2,5	2,5
Reidentificación	7,0	7,0 ó 5,0	7,0 ó 5,0
Lectura y registro de movimientos entre granjas	2,0	0,17 ó 0,1	0,17 ó 0,1
Lectura y registro en matadero	2,0	0,1	0,1
Recuperación de dispositivos	0,6	0,6	0,6

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los costes totales variaron entre 30,5 y 39,2 millones €, siendo CID la estrategia de menor coste y e-BID la más cara. El coste de e-CID, muy cercano al de e-BID, alcanzó los 38,5 millones €. Los costes por animal identificado fueron 12,20, 15,42 y 15,70 €/año, para CID, e-CID y e-BID, respectivamente (**Tabla 2**).

Para CID, el componente más importante de los costes fue el registro de movimientos entre granjas (25%) y que, sumado a todos los costes referidos a la mano de obra (identificación inicial, reidentificación, registro de movimientos en el matadero y recuperación de los dispositivos en el matadero) supuso el 47,8% del total. El segundo componente en importancia fue la identificación inicial (16,4%), seguido por la reidentificación (14,7%) que alcanzó valores importantes debido al porcentaje de pérdidas anuales del crotal convencional, estimado en un 6% (Ghirardi et al., 2004). El coste de la base de datos representó el 13,8%. En esta estrategia la amortización de equipos solo alcanzó el 7,4% de los costes totales.

En las estrategias e-CID y e-BID se obtuvieron resultados similares en cuanto a la importancia de los componentes del coste. Los principales componentes, para e-CID y e-BID respectivamente, fueron la amortización de equipos 47,0 y 51,7%; y la identificación inicial 20,8 y 22,3%. Se observó una disminución considerable de los costes en mano de obra al compararlas con CID, representando el 10,8% en e-CID y

el 9,1% en e-BID. Los costes en reidentificación también disminuyeron suponiendo el 6,2% en e-BID, debido al bajo porcentaje de pérdidas del bolo ruminal (0,03%, Ribó et al., 2003) y 10,6% en e-CID. Finalmente, el coste de la base de datos, representó el 10,9 y el 10,7% para e-CID y e-BID, respectivamente.

**Tabla 2.** Costes de la identificación y registro del ganado bovino en España según la estrategia evaluada (€/año)

	CID	e-CID	e-BID
Dispositivos:			
Identificación (ID)	4.998.981 (16,4%)	7.998.370 (20,7%)	8.748.217 (22,3%)
Reidentificación (re-ID)	4.471.032 (14,7%)	4.084.897 (10,6%)	2.438.745 (6,2%)
M. de obra ID, re-ID y registro	3.956.662 (13,0%)	2.911.084 (7,6%)	2.526.982 (6,4%)
Registro de movimientos:			
Entre granjas	7.619.556 (24,9%)	640.586 (1,7%)	469.111 (1,2%)
En matadero	2.618.400 (8,6%)	196.380 (0,5%)	196.380 (0,5%)
Recuperación en matadero	392.760 (1,3%)	392.760 (1,0%)	392.760 (1,0%)
Base de datos	4.200.060 (13,7%)	4.200.060 (10,9%)	4.200.060 (10,7%)
Amortización de equipos	2.242.040 (7,4%)	18.114.032 (47,0%)	20.277.072 (51,7%)
Total:			
€/año	30.499.491	38.538.169	39.249.327
€/animal identificado y año	12,20	15,42	15,70

Los resultados de este estudio muestran una diferencia de 3,2-3,5 € entre la identificación convencional y la e-ID, que puede considerarse reducida dadas las ventajas adicionales que representa la e-ID para la automatización de otras tareas en la gestión de las granjas. La diferencia entre e-CID y e-BID no se considera relevante. Es importante destacar que en el estudio no se han incluido otros costes y beneficios asociados a la identificación (programas de control sanitario o de producciones y mejora genética), que llevarían asociado un mayor número de lecturas y transferencia de datos por animal. Tampoco se han incluido los costes derivados de los errores de identificación que debe esperarse sean mayores en la convencional. Por otro lado, una reducción del precio de los dispositivos de identificación y fundamentalmente de los equipos necesarios (lectores y ordenadores), que representan más del 47% de los costes de la e-ID, o un aumento en el tamaño medio de las granjas (actualmente 17 bovinos/granja), podrían hacer de la e-ID la opción más barata a nivel nacional. Esta situación se presenta actualmente en explotaciones tipo de 100 vacas lecheras, 600 vacas de carne y 1000 terneros de engorde/año (Saa et al., 2005).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ghirardi J.J., Caja G., Conill C., Hernández-Jover M. & Garín D. 2004. *J. Anim. Sci.* 82 (Supl. 1):351 (Abstr.).
- INE, 2005. Censo agrario de 1999. <http://www.ine.es>
- MAPA, 2002. Boletín mensual de estadística. Movimiento comercial pecuario, Enero a Diciembre de 2001. MAPA, Madrid.
- MAPA, 2005. <http://www.mapya.es>. Consultada: 27 enero 2005.
- Noticias infoagro, 2003. <http://www.infoagro.com/noticias/> (02-04-2003)
- Ribó O., Cuypers M., Korn C., Meloni U., Centioli G., Cioci D., Ussorio A. & Veran J. 2003. <http://idea.jrc.it/pages%20idea/final%20report.htm>
- Saa C., Milán M.J., Caja G. & Ghirardi J.J. 2005. *J. Anim. Sci.* 83 (Supl. 1): aceptado (Abstr.).

## COMPARACIÓN DEL COSTE DE LA IDENTIFICACIÓN CONVENCIONAL Y ELECTRÓNICA DEL OVINO Y CAPRINO EN ESPAÑA<sup>a</sup>

C. Saa, M. J. Milán, G. Caja, J. J. Ghirardi

Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.

### INTRODUCCIÓN

El Consejo de la Unión Europea ha adoptado recientemente el Reglamento CE 21/2004, por el que se establece un sistema de identificación y registro de los animales de las especies ovina y caprina. Dicho reglamento obliga a la identificación y registro de todos los ovinos y caprinos nacidos después del 9 de julio de 2005 mediante un doble sistema de identificación que tanto puede estar basado en el uso de dos crotales oficiales o de un crotal y un dispositivo electrónico. El uso del dispositivo electrónico será obligatorio a partir del 1 de enero de 2008 en todos los países en los que el censo supere los 600.000 animales. El reglamento hace una excepción en su Artículo 4 (3) por el que se permite que los animales destinados a sacrificio antes de 12 meses de edad y no destinados a la exportación, puedan identificarse, antes de abandonar la explotación de nacimiento, con un solo crotal que contenga el código del país y el de la explotación. El reglamento obliga a los estados miembros a crear una base de datos informatizada, que recoja la información de las explotaciones, censos y movimientos de los animales. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el coste de la identificación y registro de la cabaña ovina y caprina en España mediante diferentes estrategias explícitamente permitidas el Reglamento CE 21/2004.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se construyó un modelo para calcular el coste total anual asociado a la identificación y registro de los animales nacidos anualmente en España mediante el programa Microsoft Excel 2000. Se evaluaron tres estrategias:

- a) **CID**, identificación convencional de los reproductores con dos crotales de poliuretano con código individual (0,30 €/ud). Los corderos y cabritos destinados al sacrificio se identifican mediante dos crotales de pequeño tamaño con el código del país y de la explotación (0,15 €/ud);
- b) **EID**, identificación electrónica de todos los animales utilizando un bolo ruminal (2,20 €/ud) y un crotal de poliuretano con código individual en los reproductores (0,30 €/ud) o con un crotal de pequeño tamaño con código individual en corderos y cabritos (0,15 €/ud);
- c) **MID**, estrategia mixta que combina las dos estrategias anteriores, CID para los animales destinados a sacrificio y EID para los reproductores.

En las estrategias CID y MID se consideró la excepción del Artículo 4(3) del reglamento que permite identificar a los corderos y cabritos destinados al sacrificio en el país antes de los 12 meses, con un solo crotal con el código del país y de la explotación aplicado antes de salir de la explotación de nacimiento (opción de mínimo coste).

El nº de corderos y cabritos nacidos anualmente en España se estimó en 26.777.114 a partir del censo del año 2000 (MAPA, 2002). El número de explotaciones fue de 181.725 (INE, 2005) y el de mataderos se estimó en 408 (MAPA, 2005).

El porcentaje medio de pérdidas de crotales considerado fue del 10% anual (Conill et al., 2002). Para el bolo se consideró un porcentaje de pérdidas del 0,03% (Ribó et al., 2003; San Miguel et al., 2004). Los movimientos de animales se basaron en los datos

<sup>a</sup>Trabajo incluido en el proyecto FAIR 5-QLK1-CT-2001-02229 "EID+DNA Tracing" de la Unión Europea.

de sacrificios y movimientos pecuarios del MAPA (2002).

Los equipos necesarios considerados fueron un aplicador de crotales por explotación (30 €/ud) y un ordenador portátil (1.500 €/ud) para cada 50 explotaciones para las tres estrategias; además, en el caso de EID y MID se incluyó un aplicador de bolos (45 €/ud) y un lector manual (380 €/ud) por explotación, así como un lector estático (1.900 €/ud) cada 50 explotaciones y tres lectores estáticos por cada matadero. Los periodos de amortización fueron de 5 años, excepto para los ordenadores que fue de 3 años. Se realizó un análisis de sensibilidad en el que se evaluó el efecto del porcentaje de pérdidas y del precio del bolo en el coste anual por animal identificado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los costes totales y por animal identificado de las diferentes estrategias se han resumido en la **Tabla 1**. En la estrategia CID el coste del trabajo supone un 51,3% que se debe fundamentalmente al tiempo destinado a la identificación, reidentificación y registro inicial, así como a las lecturas y registro de los movimientos. Destaca además el coste de los crotales de reidentificación que es elevado por el valor medio de las pérdidas y el mayor coste de los crotales de reidentificación que, según el reglamento, deben llevar el mismo código de identificación que el original.

En EID los dispositivos y equipos necesarios para la identificación inicial supusieron un 67,7% del coste total. La lectura y registro automático redujeron considerablemente los costes de mano de obra (17,7%), sobre todo en lo referente al registro de movimientos. Por el contrario, se añadió el coste del trabajo necesario para la recuperación de los bolos en matadero (3,6%) que se realiza actualmente de forma manual. El desarrollo de equipos automáticos a precios razonables, podría disminuir este componente.

En el caso de la estrategia mixta MID, el componente más importante del coste total es el trabajo, sobre todo en la identificación inicial, reidentificación y registro (31,7%), sin embargo el tiempo dedicado a lectura y registro de los movimientos fue reducido (2,7%). Análogamente a EID, los valores del coste de los dispositivos para la identificación inicial (17,8%) y de la amortización de equipos (27,5%) fueron elevados.

Dada la importancia de los costes de la reidentificación de los crotales, que eleva también el coste total en las estrategias que utilizan identificación electrónica (EID y MID), se evaluó también la posibilidad de identificar a todos los reproductores con dos crotales, además del bolo, de manera que sólo se reidentificarían cuando perdieran ambos crotales. La aplicación de esta opción de doble crotalado en la EID redujo los costes totales a 119.772.848 (ahorro de 4,4 millones de €), obteniéndose un coste total de 4,47 €/animal identificado. Al aplicarla a MID, el coste total disminuyó a 66.293.106 € (ahorro de 5,9 millones de €) ó 2,48 €/animal identificado. A pesar de que la opción de doble crotalado incrementa los costes iniciales de identificación en EID y MID, su efecto se ve compensado por la disminución de los costes de reidentificación.

En todos los casos EID fue la estrategia de mayor coste, aunque su aplicación no tiene demasiado interés actual. Por el contrario, la estrategia MID con un coste ligeramente superior a CID o que incluso llega a ser inferior cuando se aplica la opción de doble crotalado, presenta muchas de las ventajas de la EID en los reproductores (elevada retención y lectura automática) y el uso de un crotal de precio reducido para la identificación de los corderos y cabritos destinados a sacrificio a edades tempranas (el 86% del total), por lo que resultará muy conveniente su aplicación en España. Es importante destacar además que en el análisis no se han incluido otros costes, y beneficios, asociados a la identificación individual de todos los animales. Así, la aplicación de programas de control sanitario o de producciones y mejora genética, lleva asociados un mayor número de lecturas y registros por animal, lo que aumenta las ventajas de las estrategias EID y MID frente a CID. Por otro lado, EID es la estrategia que mejor asegura una trazabilidad completa de los animales durante toda su vida



productiva.

**Tabla 1.** Coste anual de distintas estrategias de identificación y registro de ovino y caprino en España según el Reglamento CE 21/2004 y la excepción del Artículo 4(3).

	CID	EID	MID
<b>Dispositivos:</b>			
Identificación (ID)	5.495.652 (7,7%)	63.488.336 (51,3%)	12.823.073 (17,8%)
Reidentificación (re-ID)	18.534.851 (26,3%)	10.985.700 (8,9%)	10.011.545 (13,9%)
Mano de obra ID, re-ID y registro	22.887.648 (32,5%)	15.157.425 (12,2%)	19.952.201 (27,6%)
<b>Registro de movimientos:</b>			
Entre granjas	11.836.883 (16,7%)	1.536.320 (1,2%)	1.408.407 (2,0%)
En matadero	816.740 (1,2%)	943.010 (0,7%)	488.405 (0,7%)
Recuperación en matadero	631.085 (0,9%)	4.512.979 (3,6%)	551.415 (0,8%)
Base de datos	7.095.335 (10,2%)	7.095.335 (5,7%)	7.095.335 (9,7%)
Amortización de equipos	3.111.600 (4,5%)	20.404.455 (16,4%)	19.869.320 (27,5%)
<b>Total:</b>			
€/año	70.409.794	124.123.560	72.199.701
€/animal identificado y año	2,63	4,64	2,70

Respecto al análisis de sensibilidad, CID fue la estrategia más sensible a la variación del porcentaje de pérdidas de crotales, con un incremento en 0,82 € por cada aumento del 10% de éstas. Este mismo incremento aumentó el coste en 0,47 y 0,41 € para EID y MID, respectivamente. Al aplicar la opción de doble crotalado a EID, el porcentaje de pérdidas crítico de crotales para igualar el coste de CID fue del 51%, siendo el coste anual de 5,97 €/animal identificado. Para MID los valores críticos fueron del 12% (3,14 €/animal identificado) y del 8% (2,43 €/animal identificado) cuando se aplicó la opción de doble crotalado. Por otro lado, EID fue la estrategia más sensible a variaciones del precio del bolo, con un aumento de 1,02 € por cada incremento de 1 € en el precio del bolo. En MID, este incremento solo supone un aumento de 0,15 €/animal identificado. El precio crítico del bolo para el que el coste de la estrategia EID (opción doble crotalado) se igualaría a CID fue muy bajo 0,40 € y no esperable en la práctica. Para MID, el precio crítico del bolo fue de 1,80 €, valor esperable a medio plazo. Sin embargo, el precio del bolo se incrementa a 3,30 € al comparar la opción de doble crotalado en MID.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conill C., Caja G., Nehring R. & Ribó O. 2002. J. Anim. Sci. 80:919-925.  
 INE, 2005. Censo agrario de 1999. <http://www.ine.es>  
 MAPA, 2002. Boletín mensual de estadística. Enero a Diciembre de 2001. MAPA, Madrid.  
 MAPA, 2005. <http://www.mapya.es>  
 Ribó O., Cuypers M., Korn C., Meloni U., Centioli G., Cioci D., Ussorio A. & Veran J. 2003. <http://idea.jrc.it/pages%20idea/final%20report.htm>  
 San Miguel O., Caja G., Nehring R., Miranda F., Merino J.A., Almansa V. & Lueso M.J. 2004. Proc. 34ª Biennial Session of ICAR, Sousse, Tunes.

## **EVALUACION DEL BIENESTAR ANIMAL EN BOVINO LECHERO: LA OPINION DE LOS EXPERTOS**

Casao A., María G. A.

Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. levrino@posta.unizar.es

### **INTRODUCCION**

El bienestar de los animales de abasto es un tema de creciente importancia en la Unión Europea. Ello ha llevado a desarrollar normativas y leyes con el fin de asegurar un nivel de bienestar adecuado a las exigencias (María et al., 1999). Los sistemas de producción más industrializados se tienen que adaptar a esta nueva demanda, modificando tanto los sistemas de alojamiento como el propio manejo. Todo ello con el fin de asegurar un óptimo nivel de bienestar animal. Para garantizar que éstos productos respetan el bienestar animal, será necesario desarrollar métodos que permitan evaluar y auditar sistemáticamente este nuevo aspecto de los sistemas de producción. Podremos así categorizar las granjas en función de la calidad de vida que ofrecen a sus animales. Es lógico pensar que serán los expertos en cada especie ganadera los que proporcionen la base de los criterios que se deberían utilizar para valorar comercialmente el bienestar animal. Todo ello siempre desde una perspectiva multidisciplinar. Este estudio es una primera aproximación para la creación de una hoja de evaluación de bienestar animal, consultando a expertos acerca de los criterios que deberían incluirse. Por razones de espacio, en esta comunicación presentamos únicamente los resultados referidos al bovino lechero.

### **MATERIAL Y METODOS**

El objetivo de este estudio es identificar medidas para evaluar el nivel de bienestar animal en la especie bovina, con el fin de desarrollar en una etapa posterior un protocolo que permita determinar el nivel de bienestar animal de dicha especie en estudios de campo. Se aplicó la técnica Delphi (Linstone y Turoff, 1975) y se utilizó el cuestionario desarrollado por Why et al. (2003) que pide a cada encuestado que identifique cinco criterios de bienestar animal para la especie en la que es experto y tres medidas para cada uno de los parámetros sugeridos. Se contactó a los expertos por Internet y las listas profesionales de distribución de correo electrónico. A cada una de las listas se envió un correo en que se explicaba el objetivo del estudio con un enlace de la página donde se encontraba la encuesta ([www.aldeavirtual.com/encuestas/index.html](http://www.aldeavirtual.com/encuestas/index.html)), de forma que se pudiese rellenar en esa misma página, y al enviarlo las respuestas llegaban a una dirección de correo electrónico creada para el estudio ([encuestabieneSTARanimal@yahoo.com](mailto:encuestabieneSTARanimal@yahoo.com)). Inicialmente, se le pregunta a cada encuestado con qué especie trabaja, y luego se le pide que defina los cinco criterios de bienestar, en principio basado en el animal, para esa especie. Posteriormente, debe puntuar de 0 a 5 los criterios que ha sugerido, según su importancia para el animal y para el rebaño. Si los criterios son negativos, se pregunta hasta qué punto se podrían evitar con buenas prácticas de manejo. En una segunda parte de la encuesta, se le pide una o más formas de medida para cada criterio, para después puntuar de 0 a 5 la bondad y practicidad de dichas formas de medida. Para cada criterio individual se contabilizó el número de veces que fue nombrado, su importancia para el individuo y el rebaño (se calculan sumando las puntuaciones que recibe cada vez que se nombra) y en total (la suma

de las anteriores) y sus correspondientes medias. En general, la puntuación total nos indica las veces que ese criterio ha sido nombrado y la media nos indica la importancia general que los expertos dan a ese criterio, independientemente de las veces que se nombre.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

En la Tabla 1 se presentan los criterios sugeridos para vacuno lechero, incluyendo el número de veces que se nombran, su importancia para el animal, el rebaño y sus correspondientes medias. Se recibieron 19 respuestas con 80 criterios para valorar el bienestar animal (4,2 criterios por respuesta, 51 basados en el animal y 19 ambientales). Los criterios basados en el animal (n=51) se dividieron en 3 categorías (comportamiento, aspectos físicos e índices zootécnicos), mientras que los criterios ambientales (n=19) se dividieron en 2 categorías (instalaciones y manejo). Dentro de los criterios basados en el animal, la mayor parte de las respuestas se centraron en aspectos físicos, entre los que destacan la presencia de enfermedades y la condición corporal, y comportamiento, dejando en último lugar los índices zootécnicos, en los que predomina la producción de leche. En cuanto a los criterios ambientales, los más nombrados son los relacionados con el tipo de instalaciones, principalmente el tipo de cama y la limpieza de las mismas, mientras que en el capítulo de manejo predomina la alimentación. Si observamos las puntuaciones totales de las categorías principales, los criterios basados en el animal obtienen 354 puntos, frente a los 240 de los criterios ambientales; sin embargo, en sus puntuaciones medias los criterios basados en el animal obtienen un 6,9, frente al 8,3 de los criterios ambientales. Como se puede apreciar claramente, los criterios basados en el animal reciben una puntuación total superior a los criterios ambientales, pero su puntuación media es bastante inferior. Esto se debe a que los expertos nombran más criterios basados en el animal, ya que esto es lo que se pedía, pero les dan menor importancia para el bienestar que los criterios ambientales, como se refleja en su puntuación media. Esto se debe a la gran variedad de instalaciones que existen para vacuno lechero, según el tipo de cama, cubículo, forma de sujeción si la hay, presencia de parques etc., de forma que la presencia de unas u otras influye mucho en el bienestar animal, lo que hace que los expertos le den gran importancia. En general, dentro de los criterios basados en el animal, predominan los aspectos físicos, tanto en puntuación total como media, mientras que en los ambientales predominan las instalaciones. Como hemos podido comprobar, Internet y el correo electrónico han resultado ser unas herramientas eficaces para recabar la opinión de los expertos. Con las respuestas recibidas hemos establecido una clasificación de los criterios para determinar cuales serían los criterios de elección para crear una hoja de calificación de bienestar para una evaluación en granja.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

- Linstone H. A., Turoff M., 1975. Addison-Wesley: Massachusetts, USA.  
María, G., Olleta, J.L., Mocé, M.L., 1999. Animal Science. Volumen: 23: 10-103  
Whay H.R., Main D. C. J., Green L.E., Webster A. J. F., 2003. An. Welfare, 12:205 – 217.

**Cuadro 1.** Criterios sugeridos para ganado vacuno lechero, que incluye el número de veces que se nombran, su importancia para el animal, el rebaño y sus correspondientes medias.

		Criterio	Veces	Import. animal	Media	Import. rebaño	Media	Total	Media	
1. Criterios basados en el animal	a. Comportamiento	Competitividad entre animales	2	8	4.0	10	5.0	18	9.0	
		Carácter apacible	2	5	2.5	7	3.5	12	6.0	
		Nº de horas acostada	2	7	3.5	8	4.0	15	7.5	
		% de vacas rumiando	1	5	5.0	5	5.0	10	10.0	
		Comportamiento	2	9	4.5	9	4.5	18	9.0	
		Comportamiento postural	3	6	2.0	7	2.3	13	4.3	
		Conductas de mantenimiento	1	4	4.0	2	2.0	6	6.0	
		Conductas anormales	1	3	3.0	2	2.0	5	5.0	
		Interacción humano-animal	1	2	2.0	2	2.0	4	4.0	
	<b>Total comportamiento</b>		<b>15</b>	<b>49</b>	<b>3.3</b>	<b>52</b>	<b>3.5</b>	<b>101</b>	<b>6.7</b>	
	b. Aspectos físicos	Movimientos corporales	2	6	3.0	8	4.0	14	7.0	
		Gritos	2	9	4.5	8	4.0	17	8.5	
		Lesiones corporales	1	4	4.0	4	4.0	8	8.0	
		Presencia de abrasiones cutáneas	1	4	4.0	4	4.0	8	8.0	
		Incidencia de patologías digestivas	1	4	4.0	4	4.0	8	8.0	
		Incidencia de accidentes	1	4	4.0	4	4.0	8	8.0	
		Presencia de enfermedades	3	15	5.0	15	5.0	30	10.0	
		Estado reproductivo	1	4	4.0	2	2.0	6	6.0	
		Cojeras	1	3	3.0	3	3.0	6	6.0	
		Mamitis	2	4	2.0	4	2.0	8	4.0	
		Presencia de celos	2	7	3.5	7	3.5	14	7.0	
		Condición corporal	5	16	3.2	13	2.6	29	5.8	
		Apetito	2	8	4.0	8	4.0	16	8.0	
		Niveles de stress	2	8	4.0	7	3.5	15	7.5	
	<b>Total aspectos físicos</b>		<b>26</b>	<b>96</b>	<b>3.7</b>	<b>91</b>	<b>3.5</b>	<b>187</b>	<b>7.2</b>	
	c. Índices zootécnicos	Producción de leche	6	21	3.5	19	3.2	40	6.7	
		Longevidad	1	3	3.0	3	3.0	6	6.0	
		Fertilidad	2	7	3.5	8	4.0	15	7.5	
		Eficiencia de conversión alimenticia	1	3	3.0	2	2.0	5	5.0	
	<b>Total índices zootécnicos</b>		<b>10</b>	<b>34</b>	<b>3.4</b>	<b>32</b>	<b>3.2</b>	<b>66</b>	<b>6.6</b>	
	<b>Total criterios basados en el animal</b>			<b>51</b>	<b>179</b>	<b>3.5</b>	<b>175</b>	<b>3.4</b>	<b>354</b>	<b>6.9</b>
	2. Criterios ambientales	a. Instalaciones	Espacio por animal	2	8	4.0	8	4.0	16	8.0
			Tipo de cama	6	26	4.3	24	4.0	50	8.3
			Acondicionamiento de las naves	1	3	3.0	4	4.0	7	7.0
Sala de ordeño			1	3	3.0	3	3.0	6	6.0	
Temperatura			3	13	4.3	13	4.3	26	8.7	
Limpeza			5	22	4.4	21	4.2	43	8.6	
Ventilación y renovación del aire			1	5	5.0	5	5.0	10	10.0	
Suelo no resbaladizo			1	5	5.0	5	5.0	10	10.0	
<b>Total instalaciones</b>		<b>20</b>	<b>85</b>	<b>4.3</b>	<b>83</b>	<b>4.2</b>	<b>168</b>	<b>8.4</b>		
b. Manejo		Ordeño	1	3	3.0	3	3.0	6	6.0	
		Manejo general	2	8	4.0	9	4.5	17	8.5	
		Alimentación	4	17	4.3	18	4.5	35	8.8	
		Manejo sanitario	1	3	3.0	3	3.0	6	6.0	
		Composición del rebaño	1	4	4.0	4	4.0	8	8.0	
<b>Total manejo</b>		<b>9</b>	<b>35</b>	<b>3.9</b>	<b>37</b>	<b>4.1</b>	<b>72</b>	<b>8.0</b>		
<b>Total criterios ambientales</b>			<b>29</b>	<b>120</b>	<b>4.1</b>	<b>120</b>	<b>4.1</b>	<b>240</b>	<b>8.3</b>	

## **EL TEST DE VELOCIDAD DE SALIDA EN LA VALORACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EN EL GANADO BOVINO**

J. Palacio<sup>1</sup>, G. Chacón<sup>1</sup>, S. García-Belenguer<sup>1</sup>, A. Sanz<sup>2</sup>, I. Casasús<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

Las reacciones de miedo del ganado bovino a humanos afectan en gran medida al funcionamiento de la explotación. El manejo de los animales miedosos es más laborioso y puede suponer un riesgo tanto para el operador como para el animal. Por ello, es de gran interés la valoración de esta respuesta de miedo. Algunas de las pruebas diseñadas para ello son el estudio de las distancias de huida y de aproximación, el test de docilidad y el test de velocidad de salida. El test de velocidad de salida cuantifica el tiempo que tarda un animal en salir de un potrero de contención o de una báscula a un espacio abierto (Burrow et al., 1988). Esta prueba mide la respuesta de miedo del animal al manejo por humanos y está correlacionada negativamente con la distancia de huida. Es un test objetivo, seguro, rápido y muy simple de realizar en una granja.

En presencia de humanos se producen tres tipos de respuestas biológicas interrelacionadas: respuesta comportamental, respuesta del sistema nervioso autónomo y respuesta del sistema neuroendocrino (Burrow et al., 1988; Burrow, 1997). El eje corticotropo participa en la respuesta neuroendocrina mediante la producción y liberación de distintas hormonas esteroides, siendo el cortisol la principal hormona sintetizada por la corteza adrenal bajo el control del eje corticotropo en situaciones de estrés, y considerándose, por tanto, un indicador del estado de bienestar animal (Cook et al., 1996). En estudios de comportamiento es interesante relacionar la respuesta de comportamiento con algún parámetro fisiológico, para de esta manera mejorar la interpretación de los resultados.

En trabajos anteriores se ha estudiado la capacidad de respuesta a situaciones estresantes de dos razas de ganado bovino de montaña (Parda de Montaña y Pirenaica). La raza Pirenaica mostró una peor adaptación a situaciones de estrés y concentraciones basales de cortisol más elevadas (García-Belenguer et al., 1996; Palacio, 2000).

El objetivo de este trabajo es valorar la utilidad del test de velocidad de huida en el estudio de diferencias comportamentales en dos razas bovinas y su relación con la actividad del eje corticotropo.

### **MATERIAL Y METODOS**

En una primera experiencia se utilizaron 20 hembras múltiparas vacías en periodo de lactación de 2 razas de aptitud cárnica (Parda de Montaña y Pirenaica) con una edad de 4 a 12 años.

El test de velocidad de huida se realizó según el protocolo de Burrow et al. (1988). Para ello, se midió el tiempo que tarda el animal en recorrer una distancia fija (1,30 metros) al salir de una báscula, parando el cronómetro cuando las dos

extremidades delanteras pasan la línea que marca la distancia establecida. La velocidad se expresó en  $\text{m s}^{-1}$ .

Un día antes de la realización de la prueba, se obtuvieron muestras de sangre para la determinación de la concentración de cortisol plasmático mediante una técnica de EIA (Chacón et al., 2004).

Transcurridos 60 días de la primera experiencia se repitió el test de velocidad de huida a un total de 71 animales adultos (41 Parda de Montaña y 30 Pirenaica), 20 de los cuales formaban parte del 1<sup>er</sup> experimento.

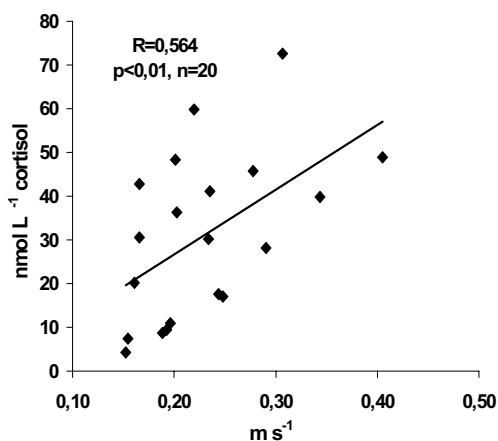
Al tener un número pequeño de muestras en cada lote, el estudio de los resultados se llevó a cabo con pruebas no paramétricas. Se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para estudiar las diferencias debidas a la raza y la rho de Spearman (R) para estudiar la correlación entre la velocidad de salida y la concentración de cortisol. Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SPSS v.9.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

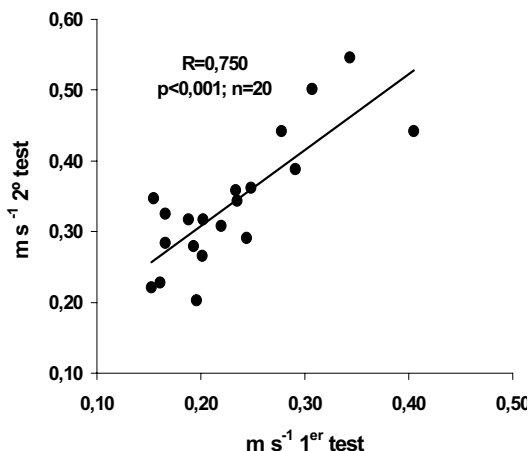
En la primera prueba realizada con 20 animales la velocidad media de salida de la raza Pirenaica ( $0,258 \pm 0,081 \text{ m s}^{-1}$ ) fue superior a la velocidad de la Parda de Montaña ( $0,200 \pm 0,033 \text{ m s}^{-1}$ ) aunque la diferencia entre ellas no resultó significativa.

La concentración basal de cortisol plasmático fue significativamente superior en la raza Pirenaica que en la raza Parda de Montaña ( $52,29 \pm 22,38$  y  $23,18 \pm 17,50 \text{ nmol L}^{-1}$ , respectivamente,  $p < 0,05$ ) y estuvo correlacionada con la velocidad de salida ( $R=0,564$ ;  $p < 0,01$ ,  $n=20$ ) (Figura 1).

**Figura 1:** Correlación entre la velocidad de salida y la concentración de cortisol plasmático.



**Figura 2:** Repetibilidad del test de velocidad de salida: Correlación entre las velocidades de salida en la segunda y primera experiencia.



En la segunda prueba realizada con un número mayor de animales (30 Pirenaica y 41 Parda de Montaña) la diferencia de velocidad entre razas resultó muy significativa ( $0,393 \pm 0,109$  y  $0,296 \pm 0,083$  m s<sup>-1</sup>, para Pirenaica y Parda de Montaña, respectivamente,  $p < 0,001$ ). La velocidad de salida superior en la raza Pirenaica indica un mayor miedo a la presencia humana, y por tanto una mayor respuesta de estrés en los manejos en los que participa directamente el ser humano. Por tanto, la Pirenaica es una raza más sensible que la Parda de Montaña, tal y como se había observado en estudios anteriores (Palacio, 2000). Este hecho se ve apoyado por las concentraciones de cortisol más elevadas en esta raza. Así mismo, las velocidades de salida estuvieron correlacionadas con la concentración basal de cortisol, indicando que los animales con concentraciones más elevadas de cortisol salían más rápidamente de la báscula. De esta manera, se demuestra una buena relación entre esta prueba de comportamiento y la valoración de la actividad neuroendocrina mediante la determinación de cortisol.

Las velocidades de salida de los 20 animales que participaron en ambas experiencias estuvieron muy correlacionadas ( $R=0,750$ ;  $p < 0,001$ ,  $n=20$ ) (Figura 2). Las pruebas se realizaron en días diferentes y tras un periodo de tiempo suficiente (60 días) para evitar una posible habituación de los animales a la prueba. La alta repetibilidad de los resultados obtenidos demuestra la fiabilidad del test.

Como conclusión, el test de velocidad de salida es una prueba válida, rápida, sencilla y segura para evaluar el comportamiento y la susceptibilidad al estrés en la especie bovina, pudiendo ser un indicador de la actividad del eje corticotropo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Burrow H.M., Sesifer G.W., Corbet N.J.**, 1988. A new technique for measuring temperament in cattle. Proceedings of the Australian Association of Animal Breeding and Genetics 9, 208-211.
- Burrow H.M.**, 1997. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. Animal Breeding Abstracts 65, 477-495.
- Cook N.J., Schaefer A.L., Lepage A., Morgan Jones S.**, 1996. Salivary vs. serum cortisol for the assessment of adrenal activity in swine. Can. J. Anim. Sci. 76, 329-335.
- Chacón G., García-Belenguer S., Illera J.C., Palacio J.**, 2004. Validation of an EIA technique for the determination of salivary cortisol in cattle. Spanish Journal of Agricultural Research 2, 45-51.
- García-Belenguer S., Palacio J., Gascón M., Aceña C., Revilla R., Mormède P.**, 1996. Differences in the biological stress response of two cattle breeds to walking up to mountain pastures in the Pyrenees. Vet. Res. 27, 515-526.
- Palacio J.**, 2000. Estudio comparativo de la respuesta de adaptación de dos razas bovinas: Parda Alpina y Pirenaica. Tesis doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

## EVOLUCIÓN DEL TEMPERAMENTO EN TERNEROS DEL MACIZO DE LA ALBERA

Marta Fina<sup>1</sup>, Joaquim Casellas<sup>1</sup>, Xavier Manteca<sup>2</sup>, Jesús Piedrafita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments,

<sup>2</sup> Unitat de Fisiologia Animal, Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia

<sup>1,2</sup> Facultat de Veterinària. UAB, 08193 Bellaterra (Barcelona).

### INTRODUCCIÓN

El temperamento, definido como la manera en que un animal reacciona ante la presencia de personas o las prácticas habituales de manejo (Gauly et al., 2001), es un carácter importante, ya que puede estar relacionado con dificultades de manejo, la seguridad de los cuidantes y el bienestar del animal, de forma que algunos ganaderos tienen en cuenta el temperamento a la hora de comprar la reposición (Elder et al., 1980). En las condiciones habituales de producción, los terneros con miedo a las personas ven disminuido su bienestar y también su productividad (Barnett et al., 1992; Hemsworth et al., 1981), viéndose afectada la ganancia de peso (Voisinet et al., 1997) o la calidad de la carne (Gregory y Grandin, 1998). Además del manejo existen otros factores importantes que afectan al temperamento como la raza, el sexo y las experiencias previas del animal (Gonyou, 2000).

El debate sobre si el temperamento de los bovinos mejora con el contacto con las personas (Le Neindre et al., 1996) o no lo hace (Grandin, 1993) sigue estando abierto. En este contexto, hemos realizado unas observaciones en unos terneros criados en el *Paratge Natural de l'Albera*, que a nuestro juicio son un material idóneo para aportar datos relevantes a la polémica. La sierra de la Albera está situada en el extremo este de los Pirineos, en la comarca del *Alt Empordà*, y en ella vive una población de bovinos en estado semisalvaje, adaptada a las condiciones geoclimáticas de la zona. Los animales adultos viven en libertad todo el año con mínimos contactos con las personas mientras que los terneros están con sus madres hasta el destete. El objetivo de este trabajo es estudiar cómo evoluciona tras el destete el temperamento de terneros que son cebados en condiciones estándar y con contacto diario con las personas.

### MATERIAL Y MÉTODOS

La población bovina de la Albera está constituida por poco más de 400 animales, siendo una parte de los mismos de capa castaña (más o menos oscurecida), lo que se considera raza de la Albera (o de las Alberes) filogenéticamente relacionada con el tronco bovino cantábrico (Casellas et al., 2004), y otra de procedencia mestiza de distintos orígenes. Los animales adultos, agrupados en tres rebaños, viven libremente todo el año, aprovechando ramas y hojas de arbustos y diversos tipos de árboles en las estaciones frías, ascendiendo a los pastos de montaña (1000 msm) durante la primavera y el verano (Bartolomé et al., 2004). Además, en periodos de escasez de alimento, reciben un suplemento alimenticio. Una vez al año se recogen los rebaños en una ceremonia tradicional denominada "*esquellada*", momento en que se realiza el saneamiento veterinario y la separación de los terneros machos para cebo.

En este estudio se han utilizado los datos de 84 terneros cebados en dos años consecutivos, que incluyen tanto animales de raza Albera como mestizos. La edad inicial oscilaba entre los 6 y 9 meses y se alimentaron con pienso estándar *ad libitum* y paja. A la vez que se controlaba el peso de los animales para una prueba de crecimiento, un observador, siempre la misma persona, les asignaba una nota de



temperamento según el baremo que se presenta en la Tabla 1. En total se hicieron 4 controles separados por una media de 28 días.

La evolución del temperamento en las sucesivas pesadas se evaluó mediante un análisis de medidas repetidas. El modelo operativo final fue el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + W_i + T_j + S_k(T_j) + a_i + e_{ijkl}$$

donde  $y_{ijkl}$  era la nota de comportamiento,  $\mu$  era la media y  $e_{ijkl}$  el efecto aleatorio residual. Los efectos considerados fueron: 1) peso del ternero en la primera pesada ( $W_i$ ); 2) nota de temperamento inicial ( $T_j$ ), con dos niveles resultantes de agrupar las puntuaciones 1 y 2 como *Animales Calmados* y las puntuaciones 3, 4 y 5 como *Animales Inquietos*; 3) efecto lineal de los días transcurridos desde la primera pesada dentro de los dos niveles de temperamento ( $S_k(T_j)$ ); y 4, efecto del animal ( $a_i$ ). En un modelo preliminar se incluyeron asimismo los efectos año, ganancia media diaria y el efecto cuadrático de los días transcurridos, siendo eliminados del modelo final al no alcanzar la significación estadística. La estructura de covarianzas de simetría compuesta resultó ser la más indicada según el criterio de información bayesiano. Los datos fueron analizados con el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2001).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al inicio del período de cebo los animales tenían una media de 279,34 kg de peso, aunque la variabilidad era grande (desviación estándar de 61,98 kg). Las medias de los valores de temperamento están representadas en la Figura 1. El temperamento de los terneros siguió una evolución distinta en función del valor inicial del mismo ( $P < 0,05$ ). También se vio influido por el peso inicial y el tiempo transcurrido desde la primera pesada ( $P < 0,05$ ). Los animales con comportamiento inicial agitado (*Animales Inquietos*), redujeron de forma importante su nota de comportamiento tras la primera pesada, es decir, tras el primer contacto con personas. El ajuste cuadrático del temperamento a lo largo del tiempo no resultó significativo, aunque sí lo fue el ajuste lineal, de forma que los terneros disminuyeron en promedio su nota de comportamiento 0,25 puntos por pesada. Por su parte, el grupo de *Animales Calmados* no mostró una tendencia de cambio significativa.

Los datos muestran que el contacto con los humanos tiene una influencia en el temperamento de los terneros evaluados. El manejo de los animales inquietos mejoró su temperamento. Este hecho está parcialmente de acuerdo con los resultados de Le Neindre (1996), quién observó que un manejo regular aminoraba la reactividad de los bovinos a los humanos, pero difiere de los resultados de Grandin (1993) y Burrow (1997), quienes observaron que un manejo intensivo en los animales no mejoraba su temperamento ni a corto ni a largo plazo. La ganancia diaria de los terneros no influyó en el comportamiento, en contra de lo observado por otros autores como Tulloh (1961) y Voisinet et al. (1997), que precisaban que los bovinos más excitados con altas notas de temperamento tenían menores ganancias de peso. La evolución del temperamento también mostró diferencias según el peso inicial de los animales. Esto se puede relacionar con la edad y, con el tiempo que permanecen en la montaña con sus madres con muy poco contacto con las personas.

En conclusión, nuestros resultados indican que el ambiente social en el que se encuentran los terneros durante el período de cebo, sin el cuidado de sus madres y con un contacto diario de los cuidantes, modifica de forma favorable su temperamento.

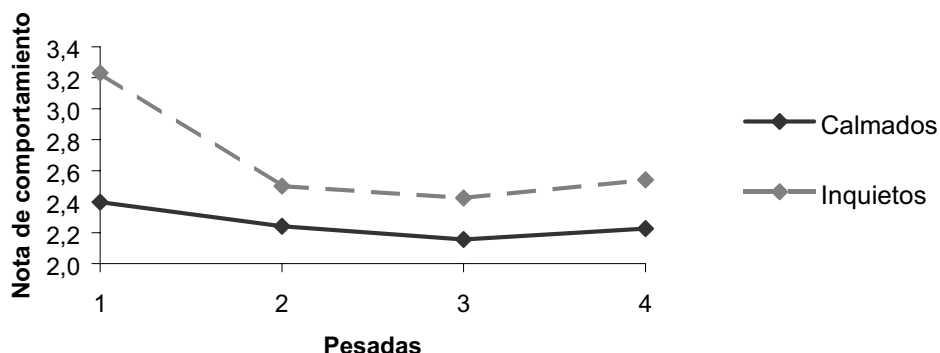
## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barnett J.L., Hemsworth P.H., Newman E.A. 1992. *Br. Poult. Sci.* 33: 699-710.
- Bartolomé J., Piedrafita J., Plaixats J. 2004. *Advances in GeoEcology* 7: 203-207.
- Burrow H.M. 1997. *Anim. Breed. Abstr.* 65: 477-195.
- Casellas J., Jiménez N., Fina M., Tarrés J., Sánchez A., Piedrafita J. 2004. *J. Anim. Breed. Genet.* 121: 101-110.
- Elder J.K., Kearnan J.F., Waters K.S., Dunwell G.H., Emmerson F.R., Knott S.G., Morris R.S. 1980. *Aust. Vet. J.* 56: 219-231.
- Gauly M., Mathiak H., Hoffmann K., Krauss M., Erhardt G. 2001. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 74: 109-119.
- Grandin T. 1993. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 36: 1-9.
- Gregory N.G., Grandin T., *Animal Welfare and Meat Science*, CABI, Wallingford, 1998.
- Gonyou H.W., Behavioral principles of animal handling and transport. In: *Livestock Handling and Transport*, Grandin T. (Ed.), 2<sup>nd</sup> Edition. CABI, Wallingford, 2000.
- Hemsworth P.H., Brand A., Willems P. 1981. *Livest. Prod. Sci.* 8: 67-74.
- Hemsworth P.H., Price E.O., Borgwardt R. 1996. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 50: 43-56.
- Le Neindre P., Boivin X., Boissy A. 1996. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 49: 73-81.
- SAS<sup>®</sup> *User's Guide, Statistics*, version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2001.
- Tulloh N.M., 1961. *Anim. Behav.* 9: 25-30.
- Voisinet B.D., Grandin T., Tatum J.D., O'Connor S.F., Struthers J.J. 1997. *J. Anim. Sci.* 75: 892-896.

**Tabla 1:** Escala de valoración del temperamento.

Puntuación	Comportamiento del animal
1	Calmado, sin movimiento
2	Ligeramente impaciente
3	Se rebela
4	Muestra movimientos continuos y vigorosos
5	Intenta girar el cuerpo y lucha violentamente

**Figura 1.** Evolución del temperamento a lo largo de las pesadas realizadas, agrupando los animales en *Calmad*os e *Inquiet*os.



## **EFFECTO DEL SISTEMA DE ALOJAMIENTO Y ALIMENTACIÓN SOBRE EL BIENESTAR Y LA PRODUCTIVIDAD EN CERDAS GESTANTES**

N.Chapinal, J.L. Ruiz de la Torre, M.D. Baucells, J. Gasa, X.Manteca  
Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona

### **INTRODUCCIÓN**

La nueva legislación europea sobre bienestar animal (directiva 2001/88/EC) obliga a alojar en grupo a las cerdas gestantes desde el día 29 de gestación hasta 7 días antes de la fecha prevista de parto a partir del 1 de enero de 2013. La prohibición de las jaulas actuales repercutirá especialmente en el manejo, la alimentación y el bienestar de los animales.

El alojamiento en jaulas permite ofrecer a cada animal su propia dieta, facilita la supervisión y manipulación de las cerdas y evita las lesiones por agresiones. Sin embargo, este sistema conlleva el desarrollo de estereotipias, apatía, estrés social (por no poder resolver las interacciones entre animales) y úlceras decubitales y cojeras (provocadas por la restricción de espacio). El alojamiento en grupo mejora muchos de estos aspectos de bienestar pero también presenta inconvenientes. Se dificulta el correcto racionamiento de cada cerda y la supervisión es más laboriosa, lo que complica la detección de problemas nutricionales, patológicos y de comportamiento. Pero el problema más importante en cuanto a bienestar es el incremento de estrés y lesiones causado por agresiones entre animales sobre todo inmediatamente después de la agrupación y durante las comidas.

El alojamiento en grupo permite el uso de diferentes sistemas de alimentación, que es lo que determinará el diseño del corral y los tamaños de los grupos. Dos de los sistemas de alimentación más comunes son el de caída lenta (SF)<sup>1</sup> y el de alimentación electrónica (EF)<sup>2</sup>. En el SF, los animales se alimentan simultáneamente, mediante un sistema de distribución continua y lenta del pienso. Dos aspectos importantes en el SF son las separaciones laterales (Petherick et al., 1987) y el ajuste de la velocidad de distribución, que influyen sobre las agresiones que se producen durante las comidas (den Hartog et al., 1993; Edwards, 1998). En el EF, cada animal es reconocido mediante un microchip por el dispensador de pienso que le suministra la ración previamente programada. Este sistema permite por tanto una alimentación individualizada pero no simultánea, lo que conlleva una mayor competencia entre animales (van Putten y van de Burgwal, 1990). El animal puede estar protegido mientras come (tipo túnel) o no (tipo Fitmix).

El objetivo general del estudio es la comparación entre dos sistemas de alimentación para cerdas (SF y EF) y el sistema tradicional de jaulas (IS)<sup>3</sup> en lo que se refiere a bienestar y productividad.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Sesenta cerdas LW x LD de primer a octavo parto se alojaron desde el día 29 de gestación hasta una semana antes del parto en tres sistemas de alojamiento y alimentación diferentes:

- A) 20 animales se alojaron en jaulas (IS) convencionales (0,60 x 2,15 x 1 m) con alimentación húmeda una vez al día.
- B) 20 animales se alojaron en 2 corrales (10 animales/corral) con SF. Los animales se alimentaban con pienso seco una vez al día con una velocidad media de 159 g/min.
- C) 20 animales se alojaron en un corral con EF, con un único dispensador de pienso húmedo sin protecciones. El ciclo de alimentación era de 24 horas y se actualizaba a las 7:00.

---

<sup>1</sup> SF = slow feeding

<sup>2</sup> EF = electronic feeding

<sup>3</sup> IS = individual stalls

Todos los animales disponían de 2,3 m<sup>2</sup>/animal excluyendo el espacio destinado al sistema de alimentación.

Los animales se pesaron (PV) los días 29, 44 y 110 de gestación y se determinó el espesor de tocino dorsal (ETD) los días 29, 44, 60, 93 y 110 de gestación mediante ultrasonidos (RENCO LEAN-METER®).

El comportamiento se observó durante 12 días no consecutivos por tratamiento, 2 horas por la mañana tras la comida y 90 minutos por la tarde. Los métodos de registro utilizados fueron el muestreo de barrido con intervalos de 10 minutos para el registro de la postura y los comportamientos oronasofaciales (ONF) de los animales (tabla 1) y el muestro de conducta para el registro de las agresiones en los tratamientos alojados en grupo (Martin y Bateson, 1993). Siempre que era posible se anotaba la emisora de la agresión, la receptora, el desenlace, la intensidad (del 1 al 4) y la localización en el corral. A partir de esta información se calculó el índice de rango social (IRS; Nielsen et al., 1995).

En las 24 horas siguientes al parto se anotó el número de nacidos vivos, muertos y momificados y el peso total de la camada y el de los nacidos vivos.

El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS-PC, versión 12.0 (SPSS Inc., Chicago). Los datos se analizaron principalmente con ANOVA de un factor con el sistema de alojamiento como factor entre sujetos y ANOVA de medidas repetidas con el sistema de alojamiento como factor entre sujetos y el tiempo como factor intra sujetos.

<b>Comportamientos oronasofaciales (ONF)</b>	<b>Descripción</b>	<b>Tratamientos donde se registra</b>
Beber (D)	Ingestión aparente de agua o manipulación del bebedero	Todos
Masticación en vacío (S)	Movimiento de masticación con la boca vacía, con posible salivación	Todos
Interacción con el suelo (T)	Lamer el suelo, hurgar	Todos
Manipulación de barras (B)	Lamer o morder alguno de los componentes metálicos de la instalación, excluyendo el tubo dispensador de pienso	IS, SF
Interacción con el comedero (C)	Lamer o morder el comedero	IS, SF
Interacción con el dispensador de pienso (I)	Intentos de obtener alimento sin éxito, obtención de restos por el acceso lateral o lamer o morder cualquier componente del dispensador	EF

**Tabla 1.** Comportamientos oronasofaciales registrados mediante barrido.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

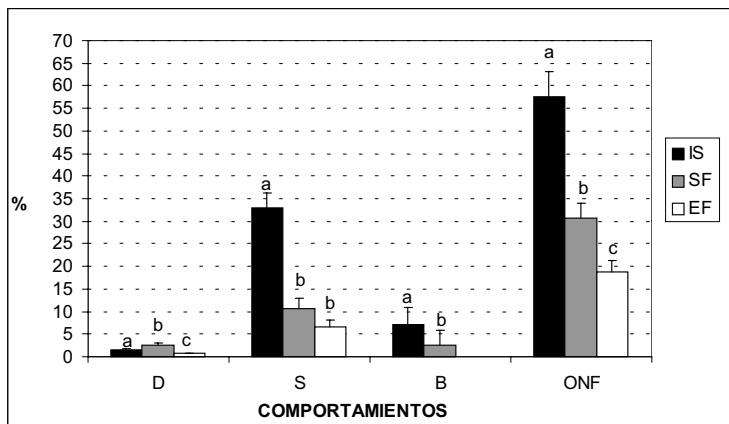
Los animales EF aparecieron echados en una mayor proporción de observaciones que los IS y SF (71,39%, 50,15% y 56,16% de los registros respectivamente;  $p < 0,001$ ). Los animales IS presentaron comportamientos ONF en una mayor proporción de observaciones que los SF y éstos en una mayor proporción que los EF ( $p < 0,001$ ). Los animales IS presentaron conducta de masticación en vacío en una mayor proporción de observaciones que los SF y EF ( $p < 0,001$ ), y manipulación de barras en una mayor proporción de observaciones en los SF ( $p < 0,01$ ). Los animales SF aparecieron bebiendo en una mayor proporción de observaciones que los IS y éstos en una mayor proporción de observaciones que los EF ( $p < 0,001$ ) (figura 1).

Estos resultados sugieren que el sistema EF podría ofrecer un ambiente menos restrictivo y más confortable, ya que los animales aparentemente desarrollaron

menos comportamientos anormales y descansaron más. El alojamiento en grupo con sistemas EF y SF reduce la aparición de estereotipias como la masticación en vacío y la manipulación de barras respecto al alojamiento en IS.

La media de agresiones (tanto emitidas como recibidas) por cada animal fue mayor en el sistema EF que en el SF (114,2 vs 39,7;  $p < 0,01$ ). En el sistema EF hubo un porcentaje mayor de agresiones en la zona de alimentación que en el SF (81,5% vs 23,5%;  $p < 0,001$ ). La proporción de agresiones con contacto físico fue mayor en el sistema EF que en el SF (39,5% vs 28,7%;  $p < 0,001$ ). Se observó una correlación entre el IRS y el número de parto en los sistemas SF ( $r_s = 0,467$ ;  $p < 0,05$ ) y EF ( $r_s = 0,498$ ;  $p < 0,01$ ), y con el PV inicial en el sistema EF ( $r_s = 0,648$ ;  $p < 0,01$ ). Estos resultados sugieren que la agresividad es un problema importante en el sistema EF, debido probablemente a que la alimentación secuencial lo hace más competitivo. Proporcionar una fuente de alimentación de baja densidad como la paja puede reducir la agresividad relacionada con la alimentación en este tipo de sistemas (van Putten y van de Burgwal, 1990; Jensen et al., 2000). El orden jerárquico parece tener más importancia en los sistemas más competitivos como indican las correlaciones del IRS con el PV inicial y con el número de parto.

No hubo diferencias entre tratamientos en el consumo medio de pienso por animal y día ni en los diferentes registros de peso vivo y ETD. Por tanto, las necesidades energéticas no se vieron aparentemente aumentadas en ninguno de los tratamientos. Por otro lado, no se observaron diferencias entre tratamientos en los rendimientos reproductivos, lo que indicaría un adecuado manejo de los animales en los diferentes sistemas (SVC, 1997).



**Figura 1.** Proporción media de registros en que los animales se observaron bebiendo (D), masticando en vacío (S), manipulando barras (B) o realizando comportamientos oronasofaciales en general (ONF). Las barras de error con diferente letra para un mismo comportamiento indican diferencias entre tratamientos con  $p < 0,001$  para D, S y ONF y  $p < 0,01$  para B.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- den Hartog LA, Backus GB, Vermeer HM. J Anim Sci 1993; 71(5):1339-1344.  
 Edwards S. In Practice 1998; 20(7):339-343.  
 Jensen KH, Sorensen LS, Bertelsen D, Pedersen AR, Jorgensen E, Nielsen NP, Vestergaard KS. Anim Sci 2000; 71:535-545.  
 Nielsen BL, Lawrence AB, Whittemore, CT. Livest Prod Sci 1995; 44:73-85.  
 Martin P, Bateson P. Newcastle, UK: Cambridge University Press, 1993:62-83.  
 Petherick JC, Boder DAV, Blackshaw JK. Farm Buildings & Engineering 1987; 4:32-36.  
 SVC. Scientific Veterinary Committee, Animal Welfare Section, Brussels. 1997.  
 van Putten G, van de Burgwal JA. Appl Anim Behav Sci 1990; 26:181-186.

Este estudio ha sido financiado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (PETRI 95-0639 OP). Los autores agradecen la colaboración de SAT – La Vall, Vall Companys Grup y Rotecna S.A.

## **EFFECTO DEL TIEMPO DE ESPERA PRE-SACRIFICIO SOBRE ALGUNOS INDICADORES FISIOLÓGICOS DE BIENESTAR ANIMAL EN CONEJOS COMERCIALES <sup>1</sup>**

*María G., Chacón G., Liste G., Buil T., García-Belenguer S., Villarroel M., Alierta S.  
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. levrino@posta.unizar.es*

### **INTRODUCCION**

El sistema de producción de carne se inicia en la granja y termina en el plato de los consumidores. Esta cadena tiene eslabones que por su brevedad y riesgo potencial constituyen puntos críticos a tener en consideración. Un mal manejo durante cualquiera de las fases de transporte y posterior sacrificio y faenado, puede poner en riesgo los esfuerzos realizados por los granjeros durante la fase de cría y cebo (Buil et al., 2004). Es muy conveniente pues que el sector ponga especial atención en realizar de forma correcta todo este proceso, que además esta muy expuesto a la opinión de los consumidores al transcurrir por carreteras y poblaciones. Este hecho es de gran importancia económica, teniendo en cuenta que en España se sacrifican anualmente 100 millones de conejos comerciales, todos los cuales deben ser transportados desde sus granjas de origen hasta el matadero. Un punto crítico de este proceso es el tiempo de espera en el matadero antes del sacrificio (Buil et al., 2004). Los grupos de investigación cuyo objetivo es la calidad de carne discrepan con aquéllos dedicados al estudio del bienestar animal, acerca de la necesidad de este periodo de espera antes del sacrificio. El presente estudio aporta información sobre el efecto del tiempo de espera sobre indicadores fisiológicos de bienestar animal en conejos comerciales.

### **MATERIAL Y METODOS**

El estudio se realizó en la primavera del año 2004 sobre un total de 76 conejos híbridos comerciales, con 2,3 Kg. de peso vivo y 2 meses de edad, que fueron transportados durante aproximadamente 3 horas, desde la granja de origen hasta el matadero. Se efectuaron dos repeticiones. Se analizaron dos tiempos de espera (2 horas o 6 horas). El efecto de la posición dentro de las torres de transporte en el camión fue analizado adicionalmente con tres posiciones (alta, media o baja). Las variables respuesta analizadas fueron algunos indicadores fisiológicos de bienestar animal. Se analizó el principal indicador de la actividad del eje Hipotálamo Pituitaria Adrenal (HPA), que en conejos es la corticosterona; dos indicadores asociados al metabolismo energético como son glucosa y lactato; así como un indicador asociado a la actividad y daño muscular, la enzima CK. La concentración de corticosterona se determinó utilizando un kit comercial (Corticosterone RAT DA I-125-RIA). Los demás parámetros fueron analizados mediante un multianalizador Tecnicon Analyser (RA-500). Los sacrificios se efectuaron en un matadero homologado aprobado por la UE situado en Villanueva de Gállego (Zaragoza), utilizando la ruta comercial del Bajo Aragón. Cada 5 minutos se registró la temperatura y la humedad relativa en la sala de espera. La temperatura media durante la espera corta y larga fue de 24,27 ( $\pm 1,39$ ) °C y 23,98 ( $\pm 1,9$ ) °C respectivamente. Se estimaron los estadísticos descriptivos de la muestra y se analizaron los resultados mediante técnicas de mínimos cuadrados. Se aplicó un

<sup>1</sup> Estudio financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia. Proyecto COTRANS CICYT AGL-2002 01346

modelo factorial que incluyó los efectos fijos tiempo de espera y posición en la torre. Comprobada la ausencia de interacción entre ambos efectos, ésta fue eliminada del modelo general. No hubo diferencias entre repeticiones.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta la significación de los efectos principales sobre las variables respuesta. Los valores basales de las variables de estrés analizadas se vieron significativamente incrementados por efecto del transporte, indistintamente de los tratamientos ( $p \leq 0,001$ ). Se corrobora que el proceso de transporte desde la granja al matadero es una situación estresante para los animales en todo caso. El tiempo de espera tuvo un efecto significativo ( $p \leq 0,01$ ) sobre la corticosterona y el lactato, que fueron más elevados en los conejos que tuvieron un tiempo de espera corto (Tabla 2). Ello indicaría que 2 horas de espera no es suficiente para que los animales se adapten a la nueva situación y se recuperen del estrés por transporte desde la granja de origen hasta el matadero. Se observó un efecto significativo ( $p \leq 0,05$ ) de la posición en la torre de carga sobre los valores basales de corticosterona. Aquellos animales situados en las jaulas superiores e intermedias presentaron valores de corticosterona más altos. Sobre los demás indicadores no se observó un efecto significativo de la ubicación espacial en la torre. La interacción entre tiempo de espera y posición no fue significativa. Aquellos animales que tuvieron tiempos de espera más largos presentaron una menor actividad del eje HPA mostrando valores de corticosterona de prácticamente 1/3 en comparación con aquellos que tuvieron una espera breve. Este hecho es concordante con los mayores niveles de lactato observados en el grupo de espera corta, indicando que éstos animales estaban en pleno proceso de adaptación en el momento de ser sacrificados. El pH de la carne no se vio afectado indicando un nulo efecto del tiempo de espera sobre este parámetro. En todos los casos la carne fue de buena calidad.

Estos resultados indican que la espera previa al sacrificio es necesaria para minimizar los efectos de una situación estresante como es el traslado desde un ambiente familiar como la granja, a un ambiente totalmente novedoso, tanto social como físicamente, como el matadero. En las condiciones de nuestro estudio, el tiempo de espera debería ser de entre cuatro y seis horas. Asimismo se verifica que un tiempo de espera corto o largo no afecta al principal parámetro asociado a la calidad de la carne. Esto demostraría que el nivel de estrés necesario para provocar cambios significativos sobre la calidad de la carne, sería muy superior al que se requiere para producir cambios significativos en los indicadores fisiológicos de bienestar animal. Esta podría ser una de las razones de la discrepancia entre los investigadores orientados al análisis exclusivo de la calidad de la carne y aquellos orientados a analizar los aspectos relacionados con el bienestar animal a partir de indicadores fisiológicos y etológicos. Una ausencia de efecto sobre la calidad de la carne no es un indicio fiable para garantizar que los animales no sufran una pérdida de bienestar durante el proceso. Nos enfrentamos a un aspecto relacionado más con la calidad ética que con la calidad instrumental. La pregunta es si nuestro mercado está dispuesto a pagar por la calidad ética de un producto de origen animal (María et al., 2004). Se hace por tanto necesario un enfoque multidisciplinar para tener una visión más objetiva de la situación y poder así alcanzar acuerdos en cuanto al tiempo de espera en matadero, garantizando el bienestar de los animales durante todo el proceso. Desde nuestra perspectiva creemos necesario un

tiempo de espera razonable para permitir a los animales una recuperación adecuada antes de su sacrificio. Es muy importante proveer de unas condiciones ambientales apropiadas para que este proceso de recuperación sea eficaz, en especial en aquellos aspectos relacionados con la temperatura y niveles de ruido.

**Tabla 1.** Significaciones de los efectos principales tiempo de espera (TE, corto o largo) y posición en la torre de carga (PT, superior, media e inferior), sobre los indicadores de bienestar y el pH del L. dorsi. *NS: No significativo; \*\*\*  $p \leq 0,001$*

Indicador	Tiempo de Espera	Posición en la Torre	(TE x PT)
Corticosterona	***	NS	NS
Glucosa	NS	NS	NS
Lactato	***	NS	NS
CK	NS	NS	NS
pH24	NS	NS	NS

**Tabla 2.** Medias de mínimos cuadrados ( $\pm$ se) de los indicadores fisiológicos de bienestar animal y del pH del L. dorsi a 24 *post mortem* en función del tiempo de espera y de la posición.

Indicador	Tiempo de Espera		Posición en la Torre		
	Corto	Largo	Superior	Media	Inferior
Corticosterona ng/ml	86,5 $\pm$ 12a	32,5 $\pm$ 12b	60,4 $\pm$ 12a	67,5 $\pm$ 15a	50,6 $\pm$ 14b
Glucosa mg/dl	148,6 $\pm$ 37a	133,9 $\pm$ 37a	138,5 $\pm$ 46a	145,3 $\pm$ 46a	139,9 $\pm$ 43 <sup>a</sup>
Lactato mg/dl	81,4 $\pm$ 6a	59,37 $\pm$ 6b	75,2 $\pm$ 7a	67,4 $\pm$ 7a	68,6 $\pm$ 7a
CK UI/l	2746 $\pm$ 425a	2951 $\pm$ 431b	2822 $\pm$ 537a	2778 $\pm$ 536a	2930 $\pm$ 498b
pH24	5,86 $\pm$ 0,03a	5,88 $\pm$ 0,03a	5,86 $\pm$ 0,04a	5,88 $\pm$ 0,03a	5,87 $\pm$ 0,03a

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BUIL T., MARIA G.A., VILLARROEL M., LISTE G., 2004. W. Rab. Sci.. 12:269-279.  
 MARIA, G., 2005. Liv. Prod. Sci.. Special Issue "Ethics in Animal Agriculture". In press

*AGRADECIMIENTOS: Los autores agradecen al matadero de Villanueva de Gállego (CUIN S.L.) y a las Asociaciones ASESCU y MADECUN por su colaboración.*



# *Reproducción*



## **INFLUENCIA DE LA RAZA Y LA EDAD EN PARÁMETROS CINÉTICOS DE EYACULADOS BOVINOS**

Muíño R.<sup>1</sup>, Fernández M.<sup>1</sup>, Areán H.<sup>1</sup>, Viana J.L.<sup>1</sup>, Fernández A.<sup>1</sup> y Peña A.I.<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup> Centro de Selección y Reproducción Animal de Galicia. Xenética Fontao, S.A.,

Fontao-Esperante, Apdo 128. 27080 Lugo (España). [xeneticafontao.agri@xunta.es](mailto:xeneticafontao.agri@xunta.es)

<sup>(2)</sup> Departamento de Patología Animal. Reproducción y Obstetricia. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 Lugo. España.

### **INTRODUCCIÓN**

La motilidad espermática normalmente se valora de forma subjetiva, mediante la observación de una muestra de semen con un microscopio de contraste de fases y platina a 37°C. Este es el método más simple, rápido y barato de evaluar la motilidad, pero tiene el inconveniente de ser altamente subjetivo. Los sistemas CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) proporcionan información precisa, objetiva y repetible, sobre el porcentaje de células móviles presentes en una muestra de semen y la calidad media de ese movimiento (Amann, 1989; Anzar et al., 1991). Todas estas ventajas, junto con unos precios cada vez más accesibles, hacen que hoy en día el uso de los sistemas CASA, al menos en centros de IA de bovino, sea generalizado.

El objetivo de este trabajo fue establecer el rango de valores normales, observables en semen fresco con calidad adecuada para la criopreservación, para una serie de parámetros descriptores del movimiento espermático. Los valores obtenidos podrían ser utilizados como parámetros de referencia por laboratorios que dispongan de un equipo Sperm Class Analyzer (software SCA<sup>®</sup>2002 Movilidad, Microptic S.L., Barcelona, España).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para este estudio se utilizaron 119 toros, 61 de raza Rubia Gallega y 58 de raza Frisona, de edades comprendidas entre 15 meses y 13 años. Una vez determinados el volumen y la concentración, se mezcló el semen procedente del primer y segundo eyaculado con un volumen de diluyente (Biociphos, IMV®, L'aigle, France) necesario para ajustar la concentración a 100 millones de espermatozoides/ml. Tras la dilución del semen se evaluó subjetivamente la motilidad espermática individual y aquellas muestras con motilidad inferior al 60% se desecharon, mientras que las que superaron dicha motilidad fueron seleccionadas para la congelación y analizadas utilizando un sistema CASA.

Para el análisis de la motilidad espermática con el CASA se ajustó la concentración del semen diluido a 1:5 (1 volumen de semen + 4 volúmenes de Biociphos) con el fin de capturar aproximadamente un total de 600 espermatozoides por muestra. El patrón de análisis del SCA 2002<sup>®</sup> predeterminado para la captura de las imágenes incluía los siguientes datos: número de imágenes capturadas por segundo: 25; velocidad mínima para espermatozoides lentos: 20 µm/s; velocidad máxima para espermatozoides lentos: 60 µm/s; velocidad máxima para espermatozoides medios 110 µm/s. Los datos se analizaron mediante un GLM (Modelo Lineal General) utilizando el programa estadístico SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Las diferencias entre razas y/o grupos de edad se consideraron significativas cuando P<0.05.

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Las medias (± desviaciones estándar) y los valores máximos y mínimos registrados para el volumen del eyaculado, la concentración espermática, el número total de espermatozoides y el porcentaje de motilidad subjetiva se presentan en la Tabla 1. Los toros de raza Frisona mayores de 3 años produjeron mayor volumen de semen que los frisonos jóvenes, y que los toros rubios de ambos grupos de edad. En

la raza Rubia Gallega no se observaron diferencias en el volumen del eyaculado entre sementales mayores y menores de 3 años. Por el contrario, la concentración espermática media fue mayor para la raza Rubia que para la Frisona, sin observarse diferencias significativas entre grupos de edad. Mediante valoración subjetiva del eyaculado también se apreció una mayor densidad en los eyaculados de los toros de raza Rubia Gallega que en los de raza Frisona (resultados no mostrados). El número total de espermatozoides por eyaculado no dependió de la raza pero sí de la edad, siendo superior en animales mayores de 3 años. La motilidad espermática, valorada por estimación subjetiva, resultó ser mayor en toros rubios que en frisonas de más de 3 años, pero entre los jóvenes de ambas razas no se observaron diferencias.

Los porcentajes de espermatozoides móviles, progresivos y no progresivos (Tabla 2) no variaron con la raza ni con la edad de los toros.

Tabla 1. Medias ( $\pm$  desviación estándar) y rango de valores observados para algunos parámetros de calidad del eyaculado en función de la raza y edad.

RAZA	EDAD (años)	N		Volumen Eyaculado (ml)	Concentración espermática ( $\times 10^6$ /ml)	Nº total de espermatozoides	Motilidad subjetiva (%)
Frisona	<3	29	Media ( $\pm$ DE)	5.68 $\pm$ 2.31	1199.28 $\pm$ 397.93	6934.35 $\pm$ 3671	80.34 $\pm$ 6.80
			Mínimo	2.8	540	1890	70
			Máximo	12.5	2331	15900	90
	>3	29	Media ( $\pm$ DE)	9.21 $\pm$ 2.21	1001.79 $\pm$ 305.81	9498.82 $\pm$ 4174.79	78.1 $\pm$ 7.25
			Mínimo	5.2	456	3146	70
			Máximo	13	1640	18655	90
Rubia Gallega	<3	30	Media ( $\pm$ DE)	5.59 $\pm$ 1.91	1323.97 $\pm$ 336.37	7276.86 $\pm$ 2582.32	80.50 $\pm$ 6.74
			Mínimo	3	759	2656.5	70
			Máximo	11.5	2033	13754	90
	>3	31	Media ( $\pm$ DE)	6.29 $\pm$ 1.73	1261.77 $\pm$ 383.15	7833.69 $\pm$ 2989.48	83.55 $\pm$ 6.98
			Mínimo	2.8	457	2467	70
			Máximo	9.3	1966	16099	95
Raza			***	**	n.s.	*	
Edad			***	n.s.	*	n.s.	
Raza * Edad			***	n.s.	n.s.	*	

n.s. P>0.05, \* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

Tabla 2. Medias ( $\pm$  desviación estándar) y rango de valores observados para el porcentaje de espermatozoides móviles, progresivos o no progresivos, en función de la raza y de la edad.

RAZA	EDAD (años)	N		Motilidad total (%)	Estáticos (%)	Móviles Progresivos (%)	Móviles no progresivos (%)
Frisona	<3	29	Media ( $\pm$ DE)	91.04 $\pm$ 2.98	8.96 $\pm$ 2.98	58.59 $\pm$ 5.64	32.45 $\pm$ 4.77
			Mínimo	84.70	3.23	51.98	22.91
			Máximo	96.77	15.30	71.13	41.23
	>3	29	Media ( $\pm$ DE)	90.79 $\pm$ 4.20	9.21 $\pm$ 4.20	57.28 $\pm$ 4.59	33.51 $\pm$ 5.48
			Mínimo	81.94	0.71	51.07	24.76
			Máximo	99.29	18.06	70.90	44.97
Rubia Gallega	<3	30	Media ( $\pm$ DE)	89.85 $\pm$ 4.14	10.15 $\pm$ 4.14	57.60 $\pm$ 5.33	32.25 $\pm$ 5.24
			Mínimo	78.85	4.67	46.12	23.23
			Máximo	95.33	21.15	67.90	44.57
	>3	31	Media ( $\pm$ DE)	91.52 $\pm$ 4.24	8.48 $\pm$ 4.24	59.35 $\pm$ 5.47	32.18 $\pm$ 5.02
			Mínimo	82.75	0.99	51	21.59
			Máximo	99.01	17.26	69.05	43.89

Los toros de razas lecheras se sabe que, en general, producen eyaculados de mayor volumen que los de razas de aptitud cárnica (Cole y Cupps, 1984). Los resultados del presente estudio claramente confirman este hecho, especialmente en el caso de toros mayores de 3 años. La concentración espermática, sin embargo, fue mayor en eyaculados de toros rubios que en los de frisones, y por tanto, el número total de espermatozoides del eyaculado resultó ser similar para ambas razas. Esto probablemente indica que la diferencia entre las dos razas en el volumen de eyaculado se debe más a una diferencia en la cantidad de plasma seminal, emitido por las glándulas sexuales accesorias durante la eyaculación, que a una diferencia en la producción testicular. De hecho, el número total de espermatozoides presentes en el eyaculado no se vio influido por la raza, pero sí por la edad del toro. Aunque en el presente estudio no se evaluó la circunferencia escrotal o el grado de consistencia del parénquima testicular, sería de esperar que, en general, los sementales de más de 3 años presentasen un mayor desarrollo testicular que los toros jóvenes, muchos de cuales no habrían completado su crecimiento corporal ni la maduración de sus órganos genitales. El tamaño y el peso del parénquima testicular son parámetros altamente correlacionados con el número total de células de Sertoli (Berndtson et al., 1987), con la producción espermática (Coulter et al., 1976; Madrid et al., 1988), y con la calidad del semen (Bailey et al., 1996) y fertilidad in vivo del semental (Elmore et al., 1976; Coulter y Foote, 1979).

En este trabajo, la motilidad individual media del semen fresco, determinada subjetivamente, osciló entre el 78 y el 83%, mientras que el valor objetivo determinado por el CASA varió entre el 89-91%. Mediante evaluación subjetiva se tendió a subestimar el porcentaje de células móviles aproximadamente en un 10%, y esto probablemente fue debido a que los espermatozoides con menor velocidad, que el CASA clasifica como lentos, visualmente fueron considerados inmóviles. Aunque en semen fresco se han descrito variaciones de entre el 30 y el 60% en la estimación subjetiva de la motilidad en función de la experiencia del técnico (Budworth et al., 1988; Amann, 1989), ésta no ha sido una fuente de variación en este estudio, puesto que todas las muestras fueron valoradas por la misma persona.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amann, R.P. 1989. Can the fertility potencial of a seminal sample be predicted accurately? *J. Androl.* 10: 89-98.
- Anzar, M., M.M. Hassan, E.F. Graham, R.C.M. Deyo, and G. Singh. 1991. Efficacy of the Hamilton Thorn motility analyzer (HTM-2030) for the evaluation of bovine semen. *Theriogenology* 36: 307-317.
- Bailey, T., D. Monke, R. Hudson, D. Wolfe, R. Carson, and M. Riddell. 1996. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls. *Theriogenology* 46: 881-887.
- Berndtson, W., G. Igboeli, and B. Pickett. 1987. Relationship of absolute numbers of Sertoli cells to testicular size and spermatogenesis in young bulls. *J. Anim. Sci.* 64: 241-246.
- Budworth, R.P., R.P. Amann, and P.L. Chapman. 1988. Relationships between computerized measurements of motion of frozen thawed bull spermatozoa and fertility. *J. Androl.* 9: 41-54.
- Cole, H.H., and P.T. Cupps. 1984. *Reproducción de los Animales Domésticos*. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 221-223.
- Coulter, G., T. Rounsaville, and R.H. Foote. 1976. Heritability of testicular size and consistency in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* 43: 10-11.
- Coulter, G., and R. Foote. 1979. Bovine testicular measurements as indicators of reproductive performance and their relationship to productive traits in cattle. *Theriogenology* 11: 297-311.
- Elmore, R., C. Bierschwal, and R. Youngquist. 1976. Scrotal circumference measurements in 764 beef bulls. *Theriogenology* 6: 485-494.
- Madrid, N., R. Ott, D. Rao, D. Parret, W. Vanderwert, and C. Willms. 1988. Scrotal circumference, seminal characteristics and testicular lesions of yearling Angus bulls. *Am. J. Vet. Res.* 49: 579-584.

## CINÉTICA DE LA ENTRADA DE CALCIO EN ESPERMATOZOIDES DE VERRACO CAPACITADOS IN VITRO

M. Sansegundo\*, C. Matás\*, N.T. Marín\*\*, A. González\*\*\*, S. Ruiz\*

\*Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. \*\*Fisiología Humana. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia. Complejo Espinardo. 30071. Murcia.

\*\*\*Dpto. Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. Avda. Universidad. 10071. Cáceres. E-mail: [sanse@um.es](mailto:sanse@um.es). <http://www.um.es/grupo-fisiovet/>

### INTRODUCCIÓN

Los espermatozoides de mamíferos necesitan experimentar una serie de cambios durante su transporte en el tracto genital femenino (Yanagimachi, 1994). Este proceso se conoce con el nombre de capacitación y engloba un conjunto de modificaciones tanto biofísicas como bioquímicas que van a conducir a los espermatozoides a su transformación en células capaces de unirse a la zona pelúcida, experimentar la reacción acrosómica, penetrar las envolturas del ovocito y finalmente formar el cigoto. La capacitación modifica la arquitectura intrínsecamente estable de la membrana espermática mediante la promoción de desórdenes lipídicos (De Lamirande et al., 1997), reorganiza o altera sustancias adsorbidas o integradas en la membrana plasmática durante la maduración en el epidídimo y propicia la exposición de una serie de receptores en ella, que posteriormente interactuarán específicamente con otros existentes en el ovocito (Yanahimachi, 1994). También se correlaciona con cambios en la concentración intracelular de determinados iones tales como el  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , destacando de entre ellos el papel del  $\text{Ca}^{2+}$  por su importancia. En el proceso de capacitación se produce un aumento en la síntesis de AMPc, estimulada por la actividad adenilatociclasa, y la inhibición de la actividad fosfodiesterásica que conducen a una elevación del  $\text{Ca}^{2+}$  intracitoplasmático (Breitbart, 2003).

El propósito de este estudio fue evaluar la cinética que sigue la entrada del ión  $\text{Ca}^{2+}$  en espermatozoides de verraco sometidos al tratamiento de capacitación in vitro mediante resuspensión en medio TALP (Rath et al., 1999).

### MATERIAL Y MÉTODOS

El semen fue recogido de 4 verracos de fertilidad probada procedentes de una granja comercial. La fracción rica fue diluída 1:1 en BTS y transportada al laboratorio a una temperatura de 22°C. El semen diluído fue centrifugado para eliminar el sobrenadante (350xg, 4 min) y el sedimento fue resuspendido en medio no capacitante (NCM) (Tardif y Dubé, 2001) en el que se hizo la incubación para la carga con el indicador Fura-2AM (2.5  $\mu\text{M}$ ) en presencia de ácido plurónico (0.025% v/v), para una concentración espermática de  $3 \times 10^8$  espz/ml, durante 45 min a 37°C en agitación. Transcurrido el período de incubación, se procedió a una nueva centrifugación para eliminar el exceso de fura del medio, y se resuspendió en NCM, incubando nuevamente a 37°C, 15 min para completar la desesterificación del fluorocromo a cargo de las esterases citosólicas. Posteriormente, la muestra se centrifugó y el sedimento se resuspendió en medio TALP para iniciar el proceso de capacitación espermática,

considerándose este momento como “tiempo 0” para el análisis de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  en los espermatozoides durante los ensayos.

Los cambios en la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  libre citosólico ( $[\text{Ca}^{2+}]_c$ ) pueden ser medidos empleando el fluorocromo Fura-2AM. Las muestras fueron analizadas mediante medición continua durante una hora a intervalos de un minuto, en un fluorímetro modelo “Aminco-Bowman Serie 2 Spectronic Unicam”, y el software utilizado para el análisis de la fluorescencia fue el “AB2 Luminiscence Spectrometer 5.31”. Para la monitorización de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  las suspensiones celulares fueron excitadas alternativamente a 340 y 380 nm, registrándose la fluorescencia emitida a 510 nm.

La  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  se calculó a partir del “ratio” de la fluorescencia emitida a las dos longitudes de onda de excitación (340/380), de acuerdo a la fórmula:  $[\text{Ca}^{2+}]_c = Kd * ((R - R_{\text{min}}) / (R_{\text{max}} - R)) * Sf / Sb$ , descrita por Grynkiewicz et al. (1985), considerando el valor de Kd para el fura-2AM de 224nM.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cinética de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  durante la hora de medición aparece reflejada en la Figura 1, donde se puede apreciar como la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  en los espermatozoides sigue una evolución ascendente conforme aumenta el tiempo. La media de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  obtenida para los distintos intervalos de tiempo (0-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50 y 51-60 min) queda reflejada en la Tabla 1, habiéndose encontrado diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para los niveles de  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  entre todos los intervalos analizados.

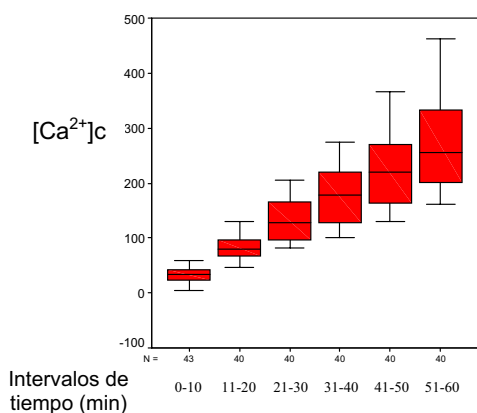


Figura 1. Estadísticos (media, desviación típica y rango) de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  según intervalos de tiempo.

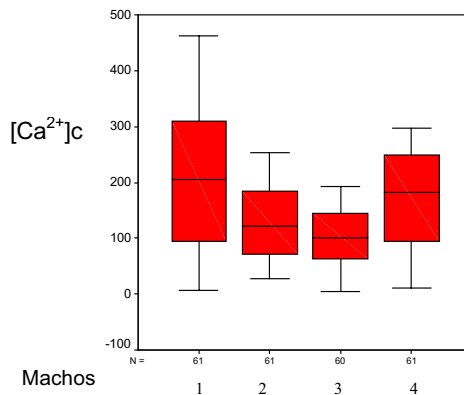


Figura 2. Estadísticos (media, desviación típica y rango) de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  de los 4 verracos estudiados.

Por otro lado, no se han encontrado diferencias en la interacción “macho x tiempo”, es decir, todos los individuos respondieron de forma similar dentro de los intervalos de tiempo analizados. Sin embargo, si existen diferencias entre verracos ( $p < 0.05$ ), en cuanto a la concentración media de  $\text{Ca}^{2+}$  por animal (Figura 2), lo que

podría estar relacionado con algunas propiedades intrínsecas del individuo o bien con la tasa de fertilidad de los mismos. En otras especies, como la humana, se ha correlacionado la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  con la fertilidad (Harper et al., 2003). Sin embargo, en la especie porcina es necesario seguir realizando estudios en este sentido para determinar los motivos de estas diferencias.

Tabla 1. Medias y error estándar de la media (EEM) de la  $[\text{Ca}^{2+}]_c$  para intervalos de tiempo.

Intervalos tiempo (min)	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60
$[\text{Ca}^{2+}]_c$	32.40	83.45	131.62	176.1	225.54	277.28
± EEM (nM)	± 2.28	± 3.60	± 5.89	± 8.31	± 10.76	± 14.49

La incubación de los espermatozoides en el medio TALP promueve ciertas modificaciones de la membrana plasmática de la célula. Así, la albúmina que contiene el medio favorece la salida del colesterol lo que hace aumentar la fluidez de la membrana y conlleva a la apertura de ciertos canales iónicos, como los del  $\text{Ca}^{2+}$ , permitiendo un aumento de su concentración en el interior celular. De este modo, durante la hora de medición, los espermatozoides mostraron un aumento paulatino de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular al encontrarse dentro de un medio cuya composición favorece la capacitación y la reacción acrosómica. Entre los componentes de este medio, cabe citar también, el papel del  $\text{HCO}_3^-$ , indispensable en el proceso, y que actúa tanto, en el aumento del pH (Visconti et al., 1998) como en la activación del sistema adenilatociclasa (Okamura et al., 1988). Además, el medio TALP contiene una concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  adecuada, necesaria para que tenga lugar todo el proceso.

Existe cierta controversia en cuanto al hecho de que es difícil diferenciar si los incrementos en la captación de  $\text{Ca}^{2+}$  por los espermatozoides de verraco son debidos a la capacitación o a la reacción acrosómica. Según algunas experiencias (Matás et al., 2003) los porcentajes de espermatozoides reaccionados a los 60 minutos de medida no fueron superiores a 1.11%. Estos datos nos hacen pensar que la mayor parte del  $\text{Ca}^{2+}$  captado por los espermatozoides es debida al proceso capacitativo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Breitbart H. 2003. Cell. Mol. Biol. 49: 3-10.  
 De Lamirande et al. 1997. Mol. Hum. Reprod. 175-94.  
 Gryniewicz et al. 1985. J. Biol. Biochem. 260: 3440-50.  
 Harper et al. 2003. Biochem. J. 372: 407-417.  
 Matás et al. 2003. Reproduction. 125: 133-141.  
 Okamura et al. 1988. Biochem. Biophys. Res. Commun. 157: 1280-1287.  
 Rath et al. J. 1999. Anim. Sci. 77: 3346-3352.  
 Tardif y Dubé. 2001. Biol. Reprod. 65: 784-792.  
 Visconti et al. 1998. Biol Reprod. 59: 1-6.  
 Yanagimachi R. 1994. Physiology of Reproduction, Vol 1 (Eds. Knobil & Neil J), pags. 189-317.

**Trabajo financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia. Proyecto AGL2003-03144.**



## **ALTERACIÓN DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE DURANTE EL PROCESO DE CONGELACIÓN DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS. PAPEL DEL GLUTATION**

Gadea J, Sellés E, Marco MA, García-Vázquez FA, Gardón JC, Cánovas S, Gumbao D, Rodríguez JA, Sansegundo M, Matás C, Romar R, Ruiz S, Coy P.

Dep. Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. [igadea@um.es](mailto:igadea@um.es)

<http://www.um.es/grupo-fisiovet>

### **INTRODUCCIÓN**

Los procesos de refrigeración y congelación producen una alteración física y química de las membranas espermáticas que tienen como consecuencia la reducción de la viabilidad celular y de su capacidad fecundante. Las alteraciones producidas por la reducción de la temperatura están asociadas con el denominado estrés oxidativo, que está inducido por la generación de agentes oxidantes (ROS). La consecuencia final es la peroxidación de los lípidos y una alteración grave de la funcionalidad espermática. El semen representa un complejo sistema redox que combina el potencial antioxidante del plasma seminal y de los espermatozoides con el potencial pro-oxidante del espermatozoide a través de la generación de ROS. El sistema defensivo antioxidante incluye una actividad enzimática (superóxido dismutasa, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa y catalasa), así como la presencia de diversas sustancias con actividad antioxidante (glutatión reducido (GSH), urato, ácido ascórbico, Vitamina E, taurina, hipotaurina, carotenoides y ubiquinonas).

El glutatión (L-g-glutamil-L-cisteinilglicina) es un tri-péptido distribuido en todas las células del organismo y juega un papel decisivo en el mecanismo de defensa intracelular frente al estrés oxidativo. La enzima glutatión peroxidasa usa GSH como agente para reducir el peróxido de hidrógeno hasta agua y el lipoperóxido hasta alquil-alcohol. Por otro lado, la forma oxidada del glutatión (GSSG) se reduce hasta GSH mediante la enzima glutatión reductasa usando NADPH como cofactor.

El objetivo de este trabajo es revisar y mostrar de forma conjunta las experiencias desarrolladas por nuestro grupo para evaluar la cantidad de GSH presente en la célula espermática porcina, estudiar como se altera como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación, y por último las posibilidades que puede aportar la adición de GSH a los medios de congelación y descongelación para mejorar la viabilidad y funcionalidad espermática. Parte de los resultados han sido publicado previamente (Gadea et al., 2004 y 2005)

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **Congelación espermática**

Las muestras seminales obtenidas de verracos de fertilidad probada fueron congeladas en un medio con lactosa y yema de huevo. El semen fue envasado en pajuelas de 0.5 ml con una concentración final de  $1 \times 10^9$  espermatozoides/ml, 3% de glicerol y 0.5% de Orvus et Paste. El proceso de descongelación se realizó mediante inmersión en un baño de agua circulante a 50°C durante 12 segundos y posterior dilución en BTS a 37°C.

## Medición del contenido de GSH intracelular

El contenido en glutatión fue determinado mediante un sistema fotométrico, en el que el glutatión es oxidado por DTNB y entonces reducido por la glutatión reductasa usando NADPH como donante de protones. El producto final de la reacción se detecta mediante cambios en la absorbancia a 412 nm.

## Análisis de la funcionalidad espermática

Se ha utilizado una amplia batería de técnicas de análisis seminal entre las que se incluyen: motilidad (microscópica y mediante CASA), viabilidad (eosina-nigrosina, carboxifluoresceína/yoduro de propidio), actividad mitocondrial (R123), estado del acrosoma, inducción de la reacción acrosómica con progesterona y ionoforo de calcio, técnicas de penetración de ovocitos in vitro (IVP) y citometría de flujo (capacitación: M540/Yo-pro1; alteraciones de grupos thioles: 5-IAF, generación de ROS y grado de condensación cromatínica).

### Experiencias:

1. Evaluación del contenido intracelular de GSH y variaciones durante el proceso de refrigeración y congelación.
2. Efecto de la adición de GSH al medio de congelación
3. Efecto de la adición de GSH al medio de descongelación

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Evaluación del contenido intracelular de GSH y variaciones durante el proceso de refrigeración y congelación.

El contenido de GSH en espermatozoides porcinos fue determinado en 44 eyaculados de 27 diferentes verracos. El valor medio fue de  $3.84 \pm 0.21$  nM GSH/ $10^8$  espermatozoides, mostrándose diferencias significativas entre los verracos ( $P < 0.001$ ; rango 1.05-6.16 nM GSH/ $10^8$  cells). El proceso de congelación provocó una reducción significativa del contenido de GSH ( $4.99 \pm 0.23$  para semen fresco,  $3.36 \pm 0.34$  para semen congelado), asociado a una disminución significativa de la calidad seminal.

2. Efecto de la adición de GSH al medio de congelación sobre la funcionalidad espermática.

Durante la fase de refrigeración (hasta 5 °C), previa a la congelación propiamente dicha, la adición de 1 y 5 mM GSH no tuvo efecto alguno sobre los parámetros seminales (IVP, motilidad, viabilidad (DCF), actividad mitocondrial), proteínas de membrana y acrosomas). Sin embargo, al estudiar la fase de congelación, la adición de GSH mejoró la motilidad (microscópica y CASA), la integridad de membrana y la funcionalidad de la misma (mayor porcentaje de espermatozoides no capacitados y menor alteración de las proteínas de membrana).

3. Efecto de la adición de GSH al medio de descongelación sobre la funcionalidad espermática

La adición de GSH al medio de descongelación aunque no tuvo efecto alguno sobre los parámetros seminales rutinarios, incrementó las tasas de penetración de ovocitos madurados in vitro y la tasa de formación de pronúcleos masculinos. En un segundo experimento, con mayor número de animales se confirmó estos resultados (mayor capacidad de penetración) así como mejoraba la viabilidad y funcionalidad de las membranas del espermatozoide (menor grado de desestabilización de membrana). Igualmente los espermatozoides tratados presentaban una menor compactación de su cromatina y la producción de agentes oxidantes fue significativamente reducida.

Estos resultados preliminares en el estudio del sistema antioxidante del espermatozoide nos permite alcanzar algunas conclusiones. 1. La congelación produce un descenso del contenido de GSH. 2. Se presentan grandes diferencias entre machos tanto para los contenidos de GSH como en el porcentaje de reducción durante el proceso de congelación. 3. La adición de GSH al medio de congelación favorece la funcionalidad de membrana, de manera dosis dependiente y altamente influenciado por el efecto macho. 4. La adición de GSH al medio de descongelación favorece la funcionalidad espermática y la capacidad de penetración y formación del pronúcleo masculino. Sin embargo, es necesario estudiar con mayor profundidad las alteraciones que se producen en el sistema antioxidante (enzimático y no enzimático) y en los procesos pro-oxidativos de generación ROS durante el proceso de congelación espermática.

Esta actividad protectora del GSH demostrada en la especie porcina esta siendo evaluada en nuestros laboratorios en la actualidad en la especie humana (Molla et al. 2004; Selles et al. 2004) y en la especie bovina (Gumbao et al., datos no publicados). Igualmente se está evaluando la función de otros agentes antioxidantes presentes en la célula espermática (Ducci et al., 2005).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ducci M, Pacchini S, Niccolini A, Gazzano A, Martelli F, Gadea J. Concentration of Carnosine, Anserine, l-Histidine and 3 methylhistidine in boar spermatozoa by a modified HPLC method. *Reprod Dom Anim. Abstr.* 2005
- Gadea J, Selles E, Marco MA, Coy P, Matas C, Romar R, Ruiz S. Decrease in glutathione content in boar sperm after cryopreservation. Effect of the addition of reduced glutathione to the freezing and thawing extenders. *Theriogenology.* 2004 Aug;62(3-4):690-701.
- Gadea J, García-Vazquez FA, Matás C, Gardón JC, Cánovas S, Gumbao D. Cooling and freezing of boar spermatozoa: Supplementation of the freezing media with reduced glutathione preserves sperm function. *J. Androl.* 26 (3). 2005.
- Molla M, Selles E, Marco Ma, Remohi J, Ballesteros A., Gadea J. Freezing procedure produces a reduction in the human spermatozoa glutathione content. *J. Andrology.* 25 (Suppl.) 45. abstr. 2004.
- Sellés E, Mollá M, Ballesteros A, Remohí J, Landeras J, Gadea J. Effect of reduced glutathione on frozen-thawed human sperm. *Andrologia* 36:187. abstr. 2004.

Financiado con proyectos MCyT (AGL-2003-03144) y Fundación Séneca (PB/15/FS/02).

## CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE LA RAZA DE CONEJO GIGANTE DE ESPAÑA

E Mocé<sup>1,2</sup>, R Lavara<sup>1</sup>, F Marco-Jiménez<sup>1,3</sup>, JS Vicente<sup>1</sup>, M López<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Ciencia Animal: Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción. Cno de Vera, s/n. 46071-Valencia (España)

<sup>2</sup>Dirección actual: Colorado State University. Department of Biomedical Sciences. Fort Collins, Colorado 80523-1680 (EE.UU.)

<sup>3</sup>Centro de Investigación y Tecnología Animal, IVIA. Ctra. Náquera-Moncada Km 4,5. 46113-Moncada, Valencia (España)

<sup>4</sup>Facultad de Veterinaria de Zaragoza: Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. C/Miguel Servet, 177. 50013-Zaragoza (España)

### INTRODUCCION

Una de las ventajas que presenta la inseminación artificial es que el eyaculado de un macho puede ser utilizado para inseminar un gran número de hembras, lo que ha permitido la reducción del número de machos en las explotaciones. Por lo tanto, los machos donantes de semen tienen que tener buenas características genéticas, presentar una buena producción espermática y elevada calidad de semen (Nizza y col., 2003). En los centros de inseminación artificial cunícolas, se utilizan machos líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento o por caracteres maternos, y por lo general se han realizado estudios para conocer las características seminales de los animales pertenecientes a estas líneas (Arroitia y col., 2000; Vicente y col., 2000; Nizza y col., 2003). No obstante, se desconocen las características del semen de los machos de la mayoría de las razas de conejos debido a que no son utilizadas habitualmente en los centros de inseminación artificial, y en los escasos trabajos realizados se ha observado una gran variación en algunos parámetros de calidad espermática en función de la raza utilizada (para una revisión, ver Alvaríño, 2000).

El objetivo de este trabajo es estudiar las características seminales de los conejos de la raza Gigante de España.

### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 69 machos (de 9 grupos familiares distintos) pertenecientes a la raza Gigante de España. Los machos estaban alojados en jaulas individuales bajo un fotoperiodo de 16L: 8D, en la granja experimental del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Los animales fueron alimentados con un pienso comercial, y tenían acceso a la comida y bebida *ad libitum*.

Se recuperaron dos eyaculados por macho y por semana en el mismo día, mediante la ayuda de una vagina artificial. Los eyaculados con coloraciones anómalas fueron descartados, y el tapón mucoso fue eliminado de aquellos eyaculados que lo presentaban. Se evaluaron los siguientes parámetros de calidad seminal: volumen, concentración, producción, porcentaje de espermatozoides móviles (de forma subjetiva), y se realizaron análisis morfológicos. El porcentaje de espermatozoides móviles se estimó de forma subjetiva utilizando un microscopio de campo claro a 400 aumentos en una muestra de semen diluida (dilución 1:25) en un diluyente constituido por Tris-ácido cítrico-glucosa (Viudes de Castro y col., 1999). Una muestra fue fijada (dilución 1:50) en una solución de glutaraldehído 0.25% en Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS) para la determinación de la concentración usando una cámara de recuento celular (cámara Thoma-Zeiss). La producción espermática fue calculada como el producto entre la concentración y el volumen. Para los análisis morfológicos (porcentaje de espermatozoides con acrosomas intactos, porcentaje de espermatozoides con presencia de gota citoplasmática y porcentaje de espermatozoides anormales) se utilizó la muestra fijada, y las células fueron evaluadas a 400 aumentos en un microscopio con contraste interferencial (Nomarski).

Para los análisis estadísticos se utilizó un paquete estadístico comercial (Statgraphics Plus, Versión 4.1, STSC Inc., Rockville, MD, EE.UU.). Para analizar la

existencia de diferencias en los parámetros de calidad seminal entre grupos familiares, se realizó un GLM incluyendo el grupo familiar como efecto fijo.

### RESULTADOS Y DISCUSION

De los 69 machos iniciales, se obtuvo semen de 58 (84%), similar a los resultados obtenidos para la línea R de la UPV, seleccionada por velocidad de crecimiento (80%, Pascual et al., 2004). No obstante, de 696 intentos de recogida en estos 58 machos, sólo se obtuvieron 289 eyaculados sin orina (42% de éxito de recuperación). En el resto de intentos de recuperaciones (58%), un 12% correspondió a reflejos de eyaculación sin obtención de semen, y el 46% restante a eyaculados con orina. El éxito de recuperación en los animales de esta raza (42%) fue menor que el observado en otras estirpes comerciales (62-81% en las líneas Caldes (Arroitia y col., 2000) e Hyla (Nizza y col., 2003), respectivamente). Este bajo porcentaje de éxito fue posiblemente debido a la edad de los animales, ya que la mayoría de ellos eran adultos de más de tres años y tenían desarrollado su comportamiento de monta con hembras, además de las condiciones de estrés evidentes que manifestaron algunos de los machos al invadir su territorio (jaula) para la extracción de los eyaculados. Posiblemente los resultados serán similares a los observados en otras líneas si se trabaja con machos entrenados a la recuperación con vagina artificial. Las características seminales de los machos de esta raza se encuentran resumidas en la tabla 1.

Tabla 1. Características seminales de la raza Gigante de España (medias  $\pm$  error estándar). Entre paréntesis aparece el número de datos.

Grupo	Volumen (ml)	Concent (x10 <sup>6</sup> /ml)	Producción (x10 <sup>6</sup> )	Motilidad (%)	NAR (%)	Gota (%)	Anormales (%)
1	0,64 $\pm$ 0,1 (25)	164 $\pm$ 27 (21)	110 $\pm$ 30 (21)	47 $\pm$ 6 <sup>a</sup> (18)	68 $\pm$ 12 (21)	16 $\pm$ 3 (21)	27 $\pm$ 4 <sup>cd</sup> (21)
2	0,75 $\pm$ 0,1 (59)	169 $\pm$ 16 (58)	130 $\pm$ 18 (58)	63 $\pm$ 4 <sup>ab</sup> (51)	89 $\pm$ 7 (58)	6 $\pm$ 2 (58)	23 $\pm$ 2 <sup>bc</sup> (58)
3	0,65 $\pm$ 0,1 (30)	149 $\pm$ 24 (27)	129 $\pm$ 26 (27)	49 $\pm$ 5 <sup>a</sup> (23)	82 $\pm$ 12 (24)	7 $\pm$ 3 (24)	21 $\pm$ 3 <sup>abc</sup> (24)
4	0,98 $\pm$ 0,1 (17)	203 $\pm$ 30 (17)	204 $\pm$ 33 (17)	66 $\pm$ 6 <sup>b</sup> (15)	79 $\pm$ 14 (16)	3 $\pm$ 4 (16)	13 $\pm$ 4 <sup>a</sup> (16)
5	0,68 $\pm$ 0,1 (22)	128 $\pm$ 28 (20)	115 $\pm$ 30 (20)	56 $\pm$ 6 <sup>b</sup> (15)	81 $\pm$ 14 (17)	7 $\pm$ 3 (17)	16 $\pm$ 4 <sup>ab</sup> (17)
6	0,78 $\pm$ 0,1 (38)	138 $\pm$ 22 (33)	126 $\pm$ 24 (33)	66 $\pm$ 5 <sup>b</sup> (24)	78 $\pm$ 10 (33)	9 $\pm$ 2 (33)	30 $\pm$ 3 <sup>d</sup> (33)
7	0,73 $\pm$ 0,1 (50)	183 $\pm$ 19 (43)	156 $\pm$ 21 (43)	68 $\pm$ 4 <sup>b</sup> (36)	99 $\pm$ 9 (43)	9 $\pm$ 2 (43)	30 $\pm$ 3 <sup>d</sup> (43)
8	0,95 $\pm$ 0,1 (44)	177 $\pm$ 19 (43)	163 $\pm$ 21 (43)	70 $\pm$ 4 <sup>b</sup> (37)	87 $\pm$ 9 (43)	12 $\pm$ 2 (43)	20 $\pm$ 3 <sup>abc</sup> (43)
9	0,90 $\pm$ 0,3 (4)	106 $\pm$ 62 (4)	99 $\pm$ 68 (4)	77 $\pm$ 14 <sup>ab</sup> (3)	81 $\pm$ 28 (4)	3 $\pm$ 7 (4)	29 $\pm$ 8 <sup>abcd</sup> (4)
TOTAL	0,78 $\pm$ 0,1 (289)	158 $\pm$ 10 (266)	137 $\pm$ 11 (266)	63 $\pm$ 2 (222)	83 $\pm$ 5 (259)	8 $\pm$ 1 (259)	23 $\pm$ 1 (259)

a, b, c, d: valores en la misma columna con diferente superíndice difieren significativamente ( $p < 0,05$ ). Concent: concentración. NAR: espermatozoides con acrosoma intacto.

El volumen de los eyaculados de la raza Gigante de España es similar al observado por otros autores en diferentes razas y líneas (0,6-1,2ml, Lavara y col., 2000; Vicente y col., 2000; Brun y col., 2002; Mocé y col., 2005). La concentración

espermática es similar al de la línea R, seleccionada por velocidad de crecimiento o al de las razas Chinchilla y Leonado de Borgoña ( $100-230 \times 10^6$  espermatozoides/ml, Pascual y col., 2004; Lavara y col., 2000; Vicente y col., 2000; Mocé y col., 2005), pero muy inferior al de otras líneas seleccionadas por caracteres maternos como las líneas A, V y H de la UPV, la Hyla, o las INRA1601 y 2066, la Caldes, seleccionada por velocidad de crecimiento, u otras razas como la Blanco de Viena, Turingia, Himalaya o Dutch Belted ( $257-564 \times 10^6$  espermatozoides/ml, Arroitia y col., 2000; Vicente y col., 2000; Brun y col., 2002; Nizza y col., 2003; Higuchi y col., 2003; Mocé y col., 2005). Por lo tanto, la producción espermática de los machos de la raza Gigante de España es inferior a la observada para la mayoría de las líneas de conejos.

El porcentaje de espermatozoides móviles (63%) es ligeramente inferior al observado en la mayoría de las líneas usadas en los centros de inseminación y al de las razas Blanco de Viena, Turingia, Chinchilla, Himalaya o Mariposa Inglés (70-80%, Arroitia y col., 2000; Vicente y col., 2000; Brun y col., 2002; Nizza y col., 2003; Mocé y col., 2005), y similar al de otras razas europeas (Argentado de Campaña y Leonado de Borgoña, Mocé y col., 2005). No obstante, se observaron diferencias entre grupos familiares, presentando los grupos 1, 3 y 5 los valores de motilidad más bajos. El porcentaje de espermatozoides con acrosomas intactos es similar al observado para el semen fresco de la mayoría de las líneas y razas de conejos (superior al 80%, Vicente y col., 2000, Mocé y col., 2005), y superior al de algunas líneas y razas como Hyla, Caldes, Argentado de Campaña y Leonado de Borgoña (64-71%, Arroitia y col., 2000; Nizza y col., 2003; Mocé y col., 2005). Los valores de gota citoplasmática son similares a los de la línea R (Lavara y col., 2000; Pascual y col., 2004), y el de anomalías espermáticas es superior al observado en las líneas A, V, H y R de la UPV o en las razas Blanco de Viena, Chinchilla y Turingia (11-15%, Vicente y col., 2000; Lavara y col., 2000; Pascual y col., 2004; Mocé y col., 2005) y similar al observado en otras líneas y razas como Hyla, Caldes, Argentado de Campaña, Leonado de Borgoña, Himalaya, Dutch Belted o Mariposa Inglés (18-30%, Arroitia y col., 2000; Nizza y col., 2003; Higuchi y col., 2003; Mocé y col., 2005). Sin embargo, existen diferencias en el porcentaje de espermatozoides anormales entre grupos, presentando los grupos 4 y 5 un menor porcentaje de espermatozoides anormales, y los grupos 6, 7 y 9 los porcentajes más elevados.

En conclusión, los eyaculados de los machos de la raza Gigante de España se caracterizan por presentar una producción espermática y un porcentaje de espermatozoides móviles inferiores a los de otras líneas utilizadas habitualmente en los centros de inseminación, un porcentaje de espermatozoides con acrosomas no dañados similar y un porcentaje de espermatozoides anormales ligeramente superior a los de otras líneas.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Este estudio ha sido financiado por el proyecto de INIA RZO1-05-C2.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

- Alvariño, JMR. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 13-35.
- Arroitia Z, Falceto MV, Martín Rillo S, De Alba C, Moreno C, Ciudad MJ, Rafel O. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 81-87.
- Brun JM, Theau-Clément M, Bolet G. 2002. Anim. Reprod. Sci., 70: 139-149.
- Higuchi TT, Palmer JS, Gray LE, Veeramachaneni, DNR. 2003. Toxicol Sci, 72: 301-313.
- Lavara R, Mocé E, Andreu E, Pascual JJ, Cervera C, Viudes de Castro MP, Vicente JS. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 167-171.
- Mocé E, Vicente JS, Lavara R, Viudes de Castro MP, López M, Bolet G. 2005. 9th Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction.
- Nizza A, Di Meo C, Taranto S. 2003. Reprod. Dom. Anim., 38: 436-439.
- Pascual JJ, Garcia C, Martinez E, Mocé E, Vicente JS. 2004. Reprod. Nutr. Dev., 44: 49-63.
- Vicente JS, Viudes de Castro MP, Lavara R, Lavara F. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress, Valencia, Vol. A: 273-277.
- Viudes de Castro MP, Vicente JS, Lavara R. 1999. Ann. Zootech., 48: 407-412.

## CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEÍNA DEL PLASMA SEMINAL OVINO CON CAPACIDAD REPARADORA Y PROTECTORA DEL DAÑO POR FRÍO

M. Fernández-Juan, S. Acín, J. Osada, J.A. Cebrián-Pérez, T. Muiño-Blanco.  
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Zaragoza.

### INTRODUCCIÓN

La existencia de factores en el plasma seminal que modulan la calidad espermática es un hecho ampliamente aceptado. Particularmente, a la fracción proteica G6 del plasma seminal ovino se le ha asignado capacidad protectora y reparadora del daño ejercido por choque térmico [1] denominando a las proteínas que mayoritariamente la componen, de 14 y 20.5 kDa, como RSVP o Ram Seminal Vesicle Proteins.

La posibilidad del uso generalizado, como crioprotectores, de estas proteínas implica disponer de ellas en cantidad adecuada. Esto, entre otras posibilidades, requiere la determinación de su origen biosintético, para una futura clonación y sobreexpresión.

Resultados preliminares indicaban que la principal fuente de las proteínas de la fracción G6 serían las vesículas seminales. Si bien, el conducto deferente podría ser otro de los tejidos involucrado en su síntesis. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido determinar y verificar cual o cuales de los tejidos del aparato genital de morueco están realmente implicados en la síntesis de esta fracción con capacidad protectora y reparadora [1].

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las vesículas seminales y el conducto deferente, tejidos objeto de estudio, procedían de dos machos, moruecos de la raza *Rasa Aragonesa*. Estos tejidos fueron congelados inmediatamente en nitrógeno líquido y almacenados a -80°C.

El RNA total se obtuvo por homogenización del tejido en el medio TRI-REAGENT™, mezcla compuesta por guanidinio tiocianato y fenol, (Sigma) [2, 3]. El Poli (A)<sup>+</sup> RNA fue aislado usando el PolyATtract mRNA Isolation System (Promega) [4]. La retrotranscripción-RT se realizó a partir de 70-80 ng de mRNA de vesícula seminal utilizando como primer Oligo (dT)<sub>20</sub>, y la enzima SuperScript™ III RT (Invitrogen™). Las muestras de cDNA se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

Una vez que las muestras fueron retro-transcriptas se amplificaron mediante la reacción en cadena de la polimerasa-PCR (SuperScript™ III RT-PCR System, Invitrogene). Se realizó una PCR de 30 a 35 ciclos, según primers, a partir de los cDNAs procedentes de la vesícula seminal. Las condiciones iniciales constaban de una etapa de desnaturalización de 45 segundos a 94°C, una etapa de hibridación de 1 minuto y 30 segundos, y 3 minutos de extensión a 72°C. Previo a la reacción en cadena de la polimerasa las muestras de cDNA se desnaturalizaron a 94°C durante 1 minuto, y como etapa final se realizó una elongación de 10 minutos a 72°C. El proceso se llevó a cabo adicionando 1 U de la enzima Platinum Taq DNA Polymerase High Fidelity (Invitrogene) y 2-3 µl del cDNA a cada tubo de reacción.

La síntesis de los cebadores o primers se basó, inicialmente, en la secuencia primaria de aminoácidos obtenida a partir de la secuenciación de Edman (secuenciación del extremo amino terminal). De la RSVP-20 se conocían 29 aminoácidos del extremo amino-terminal (Asp Glu Pro Leu Pro Asp Val Tyr Asp Val Leu Gly Met Leu Cys Cys Thr Trp Ser Tyr Tyr Tyr Ala Asp Gln Gly Gly Pro Pro).

Los cebadores RSVP20-5' (5'-GATGAICCTICCTICIGA-3') y RSVP20-3' (5'-ATGCTITGCTGCACITGG-3') se diseñaron basándose en los residuos de aminoácidos 1-6 y 13-18, respectivamente; la longitud esperada, del fragmento amplificado por RT-PCR, era de 500 pb. Para los cebadores VS2-right (5'-CTGCCAAGCATATTCTCGCT-3') y VS2-left (5'-GCTGGTGCTCAAGTGGAGA-3') se utilizó el programa Primer3 ([www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3.cgi/primer3\\_www.cgi](http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3.cgi/primer3_www.cgi)), según la secuencia de nucleótidos obtenida a partir de una amplificación inicial, mediante PCR, de los cDNAs generados por el primer RSVP20-5'. En este caso la longitud esperada, del fragmento amplificado por RT-PCR era de 300 pb.

El alineamiento de las secuencias obtenidas se llevó a cabo mediante el programa Clustal X (1.81). Se realizaron búsquedas en el NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), de las secuencias de nucleótidos, DNA, con homologías significativas con las secuencias obtenidas, mediante amplificación, a partir de nuestros primers. Igualmente, se realizaron búsquedas de las secuencias de aminoácidos, secuencia de DNA trasladada a proteína, con homologías significativas con las secuencias generadas por PCR.

El aislamiento de DNA de un gel de agarosa se realizó mediante el kit de aislamiento GeneClean Turbo [5] y la secuenciación de los fragmentos amplificados por PCR fue realizada por la Unidad de Genómica, Servicio Interdepartamental de Investigación (Universidad Autónoma de Madrid).

Para la técnica del Northern-Blot el RNA total, a partir de vesícula seminal y conducto deferente, se obtuvo por homogenización del tejido según se indica anteriormente. Las muestras problema, aproximadamente 5 µg de RNA total, se cargaron por triplicado, junto a la calle referencia (calle que permite determinar la movilidad del RNA en el gel). El gel se corrió durante 18 horas a 25 voltios. La transferencia se llevó a cabo durante 1 hora a 30 V máximo, y el revelado se realizó con la sonda RSVP-20 marcada radiactivamente con  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-dCTP obtenida a partir de la RT-PCR. En todos los casos se cargó como control de carga la  $\beta$ -actina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La estrategia utilizada para analizar la implicación de cada tejido se ha basado en la obtención de sondas específicas para la secuencia génica de las proteínas mayoritarias de la fracción G6 y su uso mediante Northern-blot para el análisis de los mRNAs de ambos tejidos.

A partir del cebador RSVP20-3', coincidente con una región amino-terminal de la proteína con menor degeneración, se sintetizó el cDNA utilizado como sonda. Este cebador, con una temperatura de fusión 62.7°C, aportó amplificaciones inespecíficas, dando lugar a dos productos de PCR con unos tamaños de aproximadamente 450 pb y 500 pb cuando se realizó la hibridación a 57°C. Esto implicaba la utilización de ambos productos como sonda radiactiva y por tanto la complicación en la técnica del Northern-blot.

Simultáneamente se probó el cebador RSVP20-5', diseñado a partir de una secuencia con mayor degeneración, con una temperatura de fusión 52.6°C, dando lugar a una amplificación específica con un tamaño del producto de PCR acorde a lo esperado, de aproximadamente 500 pb, cuando se realizó la hibridación a 52°C.

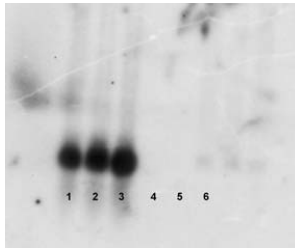
Puesto que el producto de amplificación obtenido con el primer RSVP 20-5' era único y por tanto la reacción en cadena de la polimerasa para este cebador era específica, se utilizó éste como cebador que permitiría obtener la sonda para el Northern-blot. Esta técnica permite determinar la expresión génica en los tejidos de estudio.



Cuando la sonda utilizada procedía de los cDNAs obtenidos mediante el primer RSVP 20-5' el conducto deferente representaba el 2.30% de la síntesis de la RSVP-20 con respecto a la vesícula seminal, considerando este último tejido como el 100% (imagen no presentada en texto), siendo la longitud media calculada para el mRNA que codifica para la RSVP-20 de 600 pb.

La secuenciación de este producto de amplificación permitió por un lado la síntesis de nuevos primers más específicos y por otro la búsqueda de homologías en las bases de datos.

Resultados posteriores, obtenidos mediante Northern-blot, demostraron que la síntesis del mRNA que codifica para la RSVP-20 es exclusiva de la vesícula seminal. En este experimento la sonda utilizada procedía del fragmento amplificado a partir del par de cebadores VS2-right + VS2-left (Fig. 1). Ambos cebadores VS2-right + VS2-left, con unas temperaturas de fusión de 64.2 y 64.4 respectivamente, fueron ensayados a una temperatura de hibridación de 66°C.



**Figura 1: Análisis de la expresión génica para la RSVP-20 mediante Northern-blot. Líneas 1, 2 y 3: 5 µg de RNA total de vesícula seminal por calle; Líneas 4, 5 y 6: 5 µg de RNA total de conducto deferente por calle. La sonda, 65 ng, procede del producto de amplificación obtenido a partir de los primers VS2-right + VS2-left.**

Estos resultados permiten afirmar que la expresión génica de la RSVP-20 es atribuible a la vesícula seminal, dato que confirma resultados preliminares obtenidos a partir de técnicas inmunoquímicas e inmunohistoquímicas a partir de los anticuerpos policlonales anti-G6, y anti RSVP-20, producidos en conejo mediante la inmunización de estos animales y posterior sangrado.

La búsqueda en las bases de datos NCBI confirman homologías de la secuencia de 500 pb obtenida mediante RT-PCR con el cebador RSVP 20-5' con diversas proteínas del plasma seminal y con proteínas de secreción vesicular entre la que destaca la proteína del plasma seminal 30K de *Bos taurus*.

#### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Barrios B, Perez-Pe R, Gallego M, Tato A, Osada J, Muino-Blanco T, Cebrian-Perez JA. *Biol Reprod* 63(5): 1531-7, 2000.
2. Chomczynski P. *Biotechniques* 15(3): 532-4, 536-7, 1993.
3. Chomczynski P, Sacchi N. *Anal Biochem* 162(1): 156-9, 1987.
4. Wallace DM. *Methods Enzymol* 152: 41-8, 1987.
5. Vogelstein B, Gillespie D. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76(2): 615-9, 1979.

**\* Este trabajo ha sido financiado por las ayudas CICYT AGL 2002-00097, INIA RZ03-035 y CICYT-FEDER AGL 2004-02882.**

## **ANÁLISIS MEDIANTE ELECTROFORESIS BIDIMENSIONAL DE LAS PROTEÍNAS DEL PLASMA SEMINAL OVINO DE LA RAZA RASA ARAGONESA**

Cardozo-Cerquera, J.A.; Vihas, L.; Cebrián-Pérez, J.A. y Muiño-Blanco, T.  
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular. Fac. de Veterinaria. Uni. de Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

El plasma seminal es una mezcla de secreciones provenientes del testículo, epidídimo y glándulas sexuales accesorias [1], importante para el adecuado funcionamiento del espermatozoide, y constituye el medio natural de maduración y transporte del espermatozoide [2].

Las proteínas del plasma seminal actúan unas como factores discapacitantes [3], y otras están involucradas en la viabilidad del espermatozoide y la fertilización del oocito. Algunas proteínas del plasma seminal ovino se adsorben a la superficie del espermatozoide y ejercen un efecto reparador en la membrana lesionada al someter el espermatozoide a choque térmico por frío [4, 5]. Smith et al [6] observaron la ausencia de bandas específicas de proteínas entre 20 y 70 KDa en algunos moruecos durante la estación de no-apareamiento. En 1997, Smith et al [7] observaron también que los cambios estacionales en la concentración de proteínas y en la composición proteínica del plasma seminal estaban relacionados con el volumen del semen y su concentración espermática.

La electroforesis 2D-PAGE se ha utilizado para describir y caracterizar proteínas del plasma seminal de diversas especies. El objetivo de este estudio fue establecer mediante 2D-PAGE, los cambios en la concentración mensual de las proteínas del plasma seminal de ovinos de la raza Rasa Aragonesa y su relación con los porcentajes de viabilidad, motilidad y concentración espermática.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento se realizó con semen de nueve moruecos de raza Rasa Aragonesa pertenecientes a ANGRA y estabulados en las instalaciones del SAI de la Universidad de Zaragoza. El plasma seminal se obtuvo por centrifugación del semen. Posteriormente, se filtró y se guardó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Se determinó la concentración, motilidad y viabilidad de la muestra. La concentración de proteínas del plasma se determinó por el método de Bradford. La 2D-PAGE se realizó de acuerdo al método descrito por O'Farrel et al [8]. La tinción del gel se realizó con Sypro Ruby y se analizó con el software PDQuest de Bio- Rad.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se detectaron un total de 252 proteínas, con pesos moleculares entre 12,5 y 83,9 KDa, y puntos isoeléctricos (pIs) entre 4,2 y 7,6, resultados similares a los descritos por Souza et al [9]. El 86,1% de las proteínas detectadas (217) muestran pIs por debajo de 7,0, lo que demuestra que la gran mayoría de ellas son ácidas.

Cuatro proteínas (4101, 2102, 6201 y 4102) de bajo peso molecular (15,1, 15,7, 21,0 y 15,9 KDa), y pIs ácidos (5,9, 5,3, 6,6 y 5,7), presentaron la mayor concentración (11,2, 9,3, 7,7 y 4,7%, respectivamente). Resultados similares han sido publicados por Souza et al [9], que describieron tres proteínas ácidas (14,2, 15,7 y 15,3 KDa; pIs 5,0, 5,1 y 5,4), en moruecos que presentaban una alta motilidad progresiva de sus espermatozoides.

Catorce proteínas presentaron variaciones mensuales significativas en su concentración (tabla 1).

**Tabla 1. Ubicación en el mapa electroforético (SSP), peso molecular (Mr), punto isoeléctrico (pI) y porcentajes de concentración mensual de 14 proteínas que presentan variaciones mensuales significativas en su concentración.**

SSP	Mr	PI	EN	FB	MR	AB	MY	JN	JL	AG	SP	OC	NV	DC
0601	46.7	4.5	0.20	0.40		0.30	0.50	0.85	0.57	0.30	0.15	0.20	0.10	0.15
0602	44.9	4.6	0.37	0.40	0.37	0.57	0.40	0.93	0.77	0.43	0.30	0.20	0.37	0.23
1002	13.9	4.7	0.83	0.20	1.15	0.40	0.20		0.20	0.35	0.70	1.35	0.35	
2505	41.3	4.9	0.90	0.55	0.23	0.50	2.43	1.23	0.23	0.30	0.13	0.20	0.10	0.20
2901	73.2	5.0	0.47	0.40	0.43	0.70	0.43	0.50	0.55	0.20	0.13	0.33	0.25	0.63
3301	24.4	5.4	2.27	2.23	4.53	2.50	1.40	0.30	1.77	1.97	3.20	2.93	2.03	1.73
3504	40.5	5.3	0.53	2.50	1.17	1.43	3.33	3.27	1.15	1.80	0.60	0.37	0.63	0.80
4102	15.9	5.7	4.13	2.57	1.93	1.80	7.70	5.60	5.47	6.13	3.80	5.20	6.20	5.83
4502	39.8	5.7	2.73	3.10	2.33	2.33	2.33	2.23	1.07	1.97	1.00	1.53	1.90	1.73
4803	69.3	5.7	0.25	0.27	0.10	0.10	0.23	0.15	0.10	0.15	0.70	0.65	1.00	0.57
5201	21.5	6.3	1.30	0.73	1.23	1.57	1.80	1.97	1.67	1.83	1.57	1.57	1.30	0.90
6101	16.1	6.5	0.30	0.30	0.50	0.43	0.63	0.67	0.67	0.83	0.83	0.95	0.77	0.87
7902	70.8	6.7			0.10	0.40	0.20	0.20			0.20	0.20		0.10
8301	24.7	6.9	0.67	0.60	0.80	1.30	1.50	1.13	1.60	1.37	0.67	1.07	0.8	1.00

Las proteínas 0601, 0602, 2505, 2901, 3504, 4502, 5201 y 8301 presentan un descenso en sus concentraciones ( $p < 0,05$ ) a partir del mes de agosto, posiblemente en respuesta a las elevadas temperaturas durante los meses de verano. La concentración de la proteína 2901, presenta una correlación directa (40%,  $p < 0,05$ ) con el porcentaje de espermatozoides viables del eyaculado. Lo fundamental de este hecho radica en que incide sobre uno de los factores que más importancia tiene en el inicio del proceso de fertilización, como es la integridad de membrana del espermatozoide. La membrana debe estar íntegra para que la reacción del acrosoma se lleve a efecto. Este hecho sugiere que esta proteína podría actuar como agente protector de membrana. Las proteínas 0601, 2505 y 3504 presentan correlación inversa (49, 46 y 54% respectivamente,  $p < 0,05$ ) con el porcentaje de espermatozoides motiles del eyaculado, lo que podría explicar la razón del mantenimiento de la motilidad en valores aceptables, durante los meses de estrés calórico. Las proteínas 4102, 4803, 6101 y 7902 presentan mayor concentración ( $p < 0,05$ ) en los meses del segundo semestre. Las concentraciones de las proteínas 4102 y 6101 presentan correlaciones inversas (34 y 37%,  $P < 0.05$ ) con los porcentajes de espermatozoides viables del eyaculado, de tal forma que pueden estar actuando como factores desestabilizadores de la membrana en los meses de estrés calórico. Así mismo, la proteína 4102 muestra una correlación inversa (36%) con la concentración de espermatozoides del eyaculado, lo que sugiere que de alguna forma se relaciona con la producción de espermatozoides por el testículo.

Las proteínas 1002 y 3301 no presentan una tendencia definida en su comportamiento, aunque la concentración de la proteína 1002, presenta una correlación directa (49%,  $p < 0,05$ ) con el porcentaje de espermatozoides motiles del eyaculado. Estos resultados permiten sugerir que en el plasma seminal de machos ovinos de la raza Rasa Aragonesa existen proteínas cuyas concentraciones se afectan significativamente durante los meses calurosos del verano, y respaldan los datos encontrados por Smith et al [6]. De otra parte, los diversos grados de

correlación encontrados entre los valores de concentración de algunas de estas proteínas y las variables que evalúan la calidad seminal, permiten sugerir que existen interacciones entre ellas, y que de su adecuada interacción dependerá el éxito en el funcionamiento del espermatozoide.

Diecisiete proteínas no presentaron variación mensual en sus concentraciones, pero correlacionaron en algún grado con los porcentajes de motilidad, viabilidad y concentración espermática del eyaculado, como se describe a continuación.

De nueve proteínas cuyas concentraciones se correlacionan con la motilidad individual progresiva, dos (5903 y 3503) lo hacen inversamente (38,5 y 38,2%,  $p < 0,05$ ), lo que hace suponer que ejercen efectos negativos sobre esta función. Contrario a lo anterior, las otras siete proteínas (0401, 1001, 1404, 3001, 7202, 8202 y 9103) tienen una correlación directa, que explicaría en parte el hecho de encontrar buenos porcentajes de motilidad en los eyaculados analizados durante el estudio.

Las proteínas 3502, 3503, 8201 y 7101 correlacionan directamente con los porcentajes de espermatozoides viables (43,5, 36,9, 42,8 y 33,8% respectivamente), y sugiere su importancia en el mantenimiento de la integridad de la membrana.

De cinco proteínas que correlacionan con la concentración espermática del eyaculado, tres correlacionan inversamente, lo que sugiere que pueden estar relacionadas con el descenso en la producción de espermatozoides por el testículo.

En vista de estos resultados, se puede concluir que las proteínas cuya concentración correlaciona con la motilidad individual progresiva y aquellas que lo hacen con la concentración espermática del eyaculado, podrían interactuar entre ellas para tratar de establecer los correspondientes equilibrios que garanticen el éxito de la participación del espermatozoide en el proceso reproductivo. Por su parte, las proteínas que se correlacionan con los porcentajes de espermatozoides viables del eyaculado, parecen presentar un efecto beneficioso que garantiza el mantenimiento de la integridad de la membrana del espermatozoide.

**Este trabajo ha sido financiado por las ayudas CICYT-FEDER AGL 2002-00097, INIA RZ-03-035 Y CICYT-FEDER AGL 2004-02882**

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Manjunath, P., Chandonnet, L., Leblond, E., and Desnoyers, L. *Biol Reprod*, 1993, 49: 27-37.
- [2] Mortarino, M., Tedeschi, G., Negri, A., Ceciliani, F., Gottardi, L., Maffeo, G., and Ronchi, Severino. *Electrophoresis*, 1998, 19: 797-801.
- [3] Brandon, C.I., Heusner, G.L., Caudle, A.B. and Fayrer-Hosken, R.A., *Theriogenology*, 1999, 52:863-873.
- [4] Barrios, B., Pérez, R., Gallego, M., Tato, A., Osada, J., Muiño-Blanco, T, et al. *Biol Reprod*, 2000, 63, 1531-1537.
- [5] Garcia-Lopez, N., Ollero, M., Cebrian-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T. *J Chromatograph B*, 1996, 680:137-143.
- [6] Smith, J.F., Parr, j., Murray, G.R.M., McDonald, R.M. and Lee, R.S-F. *Proc N Zealand Soc of Anim Product*, 1999. 59:223-225.
- [7] Smith, J.F., Parr, J., Smith, J.K., Briggs, R.M., Duganzich, D.M. *Proc N Zealand Soc of Anim Product*, 1997. 57:259.
- [8] O'Farrel, P.Z., Goodman, H.M., O'Farrel, P.H. *Cell*, 1977, 12:113-1142.
- [9] Souza, C.E., Moura, A., Oliveira, J.T., Radis-Baptista, G. Araujo, A. And Lima, A. *J Androl*, 2004, Supp: 91.

## **INMUNOLocalIZACIÓN DE PROTEÍNAS FOSFORILADAS EN DIFERENTES ESTADOS FUNCIONALES DE ESPERMATOZOIDES OVINOS**

P. Grasa; J.A. Cebrián-Pérez y T. Muiño-Blanco.

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

La capacitación espermática (CA) se define como un complejo proceso caracterizado por una serie de transformaciones bioquímicas y fisiológicas que sufre el espermatozoide tras la maduración epididimal y que le confieren la capacidad fecundante (1). Los procesos moleculares asociados a la capacitación están implicados en el desarrollo de la capacidad de experimentar la reacción acrosómica en respuesta a estímulos fisiológicos (1-2). Se ha descrito que tanto la capacitación como la reacción acrosómica se caracterizan por incrementos en la fosforilación de proteínas (3). La localización de proteínas fosforiladas en compartimentos específicos del espermatozoide, durante los distintos estadios funcionales conducentes a la fertilización, parece estar asociada a distintas funciones de estas proteínas (4). Trabajos previos de nuestro grupo demostraron la existencia de un incremento en la fosforilación de proteínas, ligado al estado de capacitación de espermatozoides ovinos (5). Por ello, el principal objetivo de este trabajo fue iniciar el estudio del patrón de fosforilación de espermatozoides reaccionados acrosómicamente, así como la puesta a punto de un método de inmunofluorescencia indirecta para el estudio de la distribución de las proteínas fosforiladas en función del estado funcional de espermatozoides ovinos (tras el proceso de swim-up, capacitados y reaccionados acrosómicamente).

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

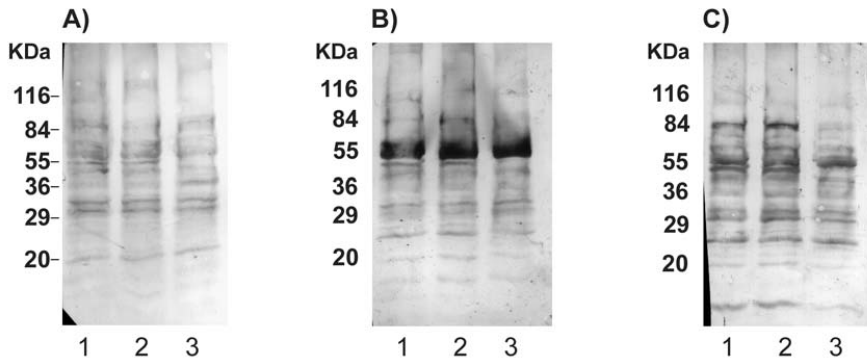
El semen utilizado fue una mezcla de los segundos eyaculados de cinco moruecos, de raza Rasa aragonesa, pertenecientes a ANGRA, mantenidos con un periodo de abstinencia de dos días.

La metodología utilizada para la preparación de las muestras de semen (por un método de swim-up/dextrano), su posterior evaluación, la inducción y valoración de la CA, así como la inmunodetección de residuos de tirosina, serina y treonina mediante Western-blot, fue la descrita previamente por Pérez-Pé y col. (6). La inducción de la reacción acrosómica (RA) *in vitro* se realizó acorde a lo descrito por Martí y col. (7). La inmunolocalización de fosfoproteínas se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta en espermatozoides permeabilizados con metanol sobre portas polilisinados.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se indujo la CA y la RA *in vitro* en espermatozoides ovinos seleccionados mediante un proceso de swim-up-dextrano, evaluando el estado acrosomal de estas muestras mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC). La fosforilación de proteínas de membrana en residuos de tirosina, serina y treonina se analizó mediante western-blot. En concordancia con resultados previos (5) y paralelamente al incremento en el número de células capacitadas, la capacitación se asoció con un aumento en la señal de fosforilación para los tres residuos. En contraste, el patrón de fosforilación de espermatozoides reaccionados acrosómicamente (Fig.1) se caracterizó por una disminución en la proporción de proteínas fosforiladas de alto (55-120 kDa) y bajo peso molecular (14-30 kDa), que se correspondió con el

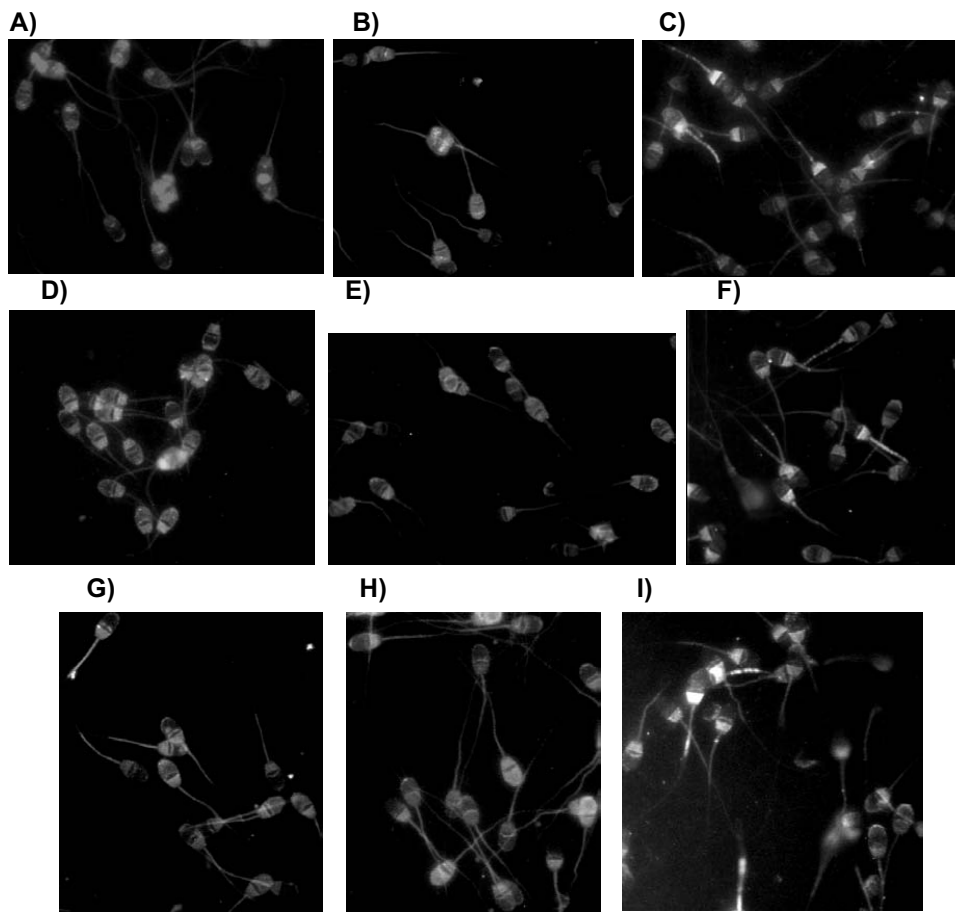
aumento en el porcentaje de células con el acrosoma reaccionado ( $p < 0,01$ ). La variación en el patrón de fosforilación observado tras la inducción de la reacción acrosómica, podría deberse a la pérdida de algunas fosfoproteínas y/o a procesos de defosforilación asociados con el flujo de calcio producido durante este proceso (8).



**Figura 1: Inmunodetección de la fosforilación de residuos de tirosina (A), serina (B) y treonina (C) en muestras espermáticas control (1), capacitadas (2) y reaccionadas (3).**

La localización subcelular de proteínas fosforiladas en tirosina, serina y treonina y sus modificaciones en función del estado funcional de los espermatozoides se analizaron mediante inmunofluorescencia indirecta. Los resultados obtenidos hasta el momento revelan que diferentes compartimentos del espermatozoide experimentan una secuencia específica de fosforilación durante los procesos de capacitación y reacción acrosómica (Fig.2). Muestras control (tras el proceso de swim-up) y capacitadas se caracterizaron por una distribución preferencial en distintos dominios de la cabeza (regiones acrosomal, ecuatorial y postacrosomal). A pesar de que ambas muestras presentaron patrones de distribución similares, los espermatozoides capacitados se caracterizaron por una localización más específica de las fosfoproteínas en la parte anterior del acrosoma y región postacrosomal (Fig.2). Además, presentaron un incremento significativo ( $p < 0,01$ ) en la distribución ecuatorial de proteínas fosforiladas en tirosina, región que parece desempeñar una función clave en la interacción espermatozoide-ovocito (1). La inducción de la reacción acrosómica se tradujo en la pérdida de la señal acrosomal y en la redistribución de las fosfoproteínas hacia la región postacrosomal y pieza intermedia del flagelo (Fig. 2 C,F,I). La localización de proteínas fosforiladas en el acrosoma junto con su posterior pérdida tras la reacción acrosómica sugiere su implicación en el proceso de capacitación. Asimismo, la redistribución de proteínas fosforiladas observada en espermatozoides con el acrosoma reaccionado podría jugar una importante función en posteriores estadios de la interacción espermatozoide-ovocito.

Estos resultados necesitan ser confirmados analizando un número suficientemente representativo de muestras. De momento, se puede sugerir que procesos de fosforilación de proteínas están implicados en la funcionalidad de espermatozoides ovinos en compartimentos específicos de la célula. En este sentido, el cambio subcelular de las fosfoproteínas observado durante la reacción acrosómica, podría tener una significación fisiológica en la consolidación de algunas proteínas fosforiladas a regiones específicas del espermatozoide implicadas en la exocitosis acrosomal y el reconocimiento, unión y penetración de la zona pelúcida.



**Fig 2. Inmunolocalización de proteínas fosforiladas en residuos de tirosina (A-C), serina (D-F) y treonina (G-H) en muestras espermáticas control (A, D, G), capacitadas (B, E, H) y reaccionadas acrosómicamente (C, F, I).**

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. Yanagimachi. Mammalian Fertilization. The Physiology of Reproduction. 189-317 (1994).
- [2] P. E. Visconti, V.A. Westbrook, O. Chertihin, I. Demarco, S. Sleight and A. B. Diekman. J Reprod Immunol 53, 133-50 (2002).
- [3] P.E. Visconti, P. Olds-Clarke, S.B. Moss, P. Kalab, A.J. Travis, M. de las Heras and M. Kopf. Reprod Dev, 43, 82-93 (1996)
- [4] F. Urner and D. Sakkas. Reproduction, 125, 17-26 (2003).
- [5] P. Grasa, J.A. Cebrián-Pérez and T. Muiño-Blanco. ITEA, 24, 318-320 (2003).
- [6] R. Pérez-Pé, P. Grasa, M. Fernández-Juan, M.L. Peleato, J.A. Cebrián-Pérez and T. Muiño-Blanco. Mol Reprod Dev, 61, 226-233 (2002).
- [7] J.I. Martí, J.A. Cebrián-Pérez and T. Muiño-Blanco. J Androl, 21, 541-8 (2000)
- [8] M. A. Baker, L. Hetherington, H. Ecroyd, S.D. Roman and R.J. Aitken, (2004). J Cell Sci, 117, 211-22 (2004).

**\* Este trabajo ha sido financiado por las ayudas CICYT-FEDER AGL 2002-00097, INIA RZ03-035 y CICYT-FEDER AGL 2004-02882.**

## **CARACTERIZACIÓN DE RAFTS LIPÍDICOS EN ESPERMATOZOIDE OVINO. ANÁLISIS DE MARCADORES PROTEICOS Y LIPÍDICOS**

C. Colás-Esteban; M. Gallego; M. Ollero; J.A. Cebrián-Pérez y T. Muiño-Blanco.  
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

Los *rafts* lipídicos son microdominios de membrana, enriquecidos en colesterol y esfingolípidos con un alto grado de compactación, haciendo que tengan un alto punto de fusión, y un fuerte carácter de insolubilidad a detergentes no iónicos a bajas temperaturas. Es por ello que se les conoce como DRMs (membranas resistentes a detergentes). Cada vez hay más evidencias de que el microambiente lipídico de los *rafts* participa en procesos de señalización celular, cambiando de composición y tamaño en respuesta a estímulos intra y extracelulares [1,2]. Estudios realizados en muy diversos tipos celulares han mostrado que los *rafts* están enriquecidos en proteínas de diferentes clases, tales como proteínas ancladas a membrana por GPI, proteínas citoplasmáticas aciladas, tales como quinasas de la familia Src, proteínas G heterotriméricas, y proteínas transmembrana [3]. Los *rafts* de membrana se han identificado en espermatozoides de varias especies [4, 5, 6, 7], y se han visto implicados en fenómenos relacionados con la capacitación [7].

El presente trabajo consistió en el aislamiento de *rafts* lipídicos en base a su insolubilidad en Triton X-100 a 4 °C, así como en la identificación de marcadores de *rafts* descritos en otras especies y tipos celulares.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El semen utilizado fue una mezcla de los segundos eyaculados de moruecos de raza Rasa aragonesa, pertenecientes a ANGRA, mantenidos con un periodo de abstinencia de dos días. La metodología utilizada para la preparación de las muestras de semen (por un método de swim-up/dextrano) y su posterior evaluación, fue la descrita previamente por Pérez-Pé y cols [8].

El aislamiento de *rafts* lipídicos se basó en la insolubilidad de los componentes de los *rafts* lipídicos al Triton X-100 a 4 °C (comunicación personal del Dr. Ollero). Brevemente, espermatozoides de swim-up se sometieron a electroporación seguida de sonicación, con objeto de fragmentar las membranas. El lisado (2 ml) se mezcló con 2 ml de de sacarosa al 80%. Esta mezcla se depositó en el fondo de un tubo de ultracentrífuga. Encima se depositó sacarosa 30% (6 ml), y para completar el gradiente, sacarosa 5% (2 ml). La ultracentrifugación se realizó a 100.000 xg, 20 horas, a 4 °C y se recogieron 12 fracciones de 1 ml. Tras la precipitación de proteínas mediante el método combinado de ácido tricloroacético-acetona, la concentración proteica se determinó mediante BCA. El análisis de marcadores proteicos se realizó mediante la técnica de Western Blotting y Dot Blot [8]. La detección de proteínas sobre el esperma mediante inmunocitoquímica según la técnica descrita en el artículo de Barrios y cols [9].

Para la identificación del gangliósido GM1 sobre espermatozoides adheridos a portas polilisados, se utilizó la subunidad B de la toxina del cólera conjugada con fluorocromo Alexa 488 (Molecular Probes).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a su baja densidad, los componentes de rafts lipídicos se pueden separar de la fracción no raft mediante ultracentrifugación de lisados celulares en gradientes de densidad de sacarosa. El aislamiento, mediante esta técnica, de *rafts* de membrana de espermatozoides ovinos, mostró que las proteínas se distribuyeron de manera diferencial en las doce fracciones recogidas tras la centrifugación (Figura 1).

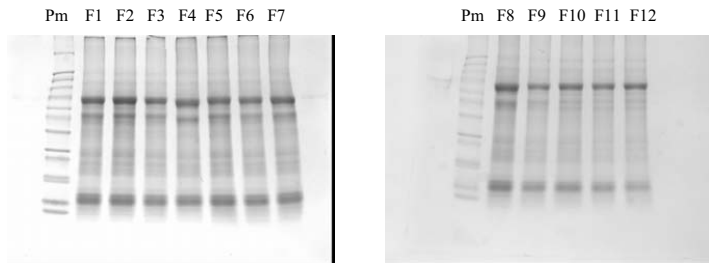


Figura 1: Separación de proteínas totales de espermatozoides ovinos mediante ultracentrifugación en gradiente de densidad de sacarosa. Se aislaron 12 fracciones que de la parte superior al fondo del tubo se designaron Fr1 a Fr12.

Se analizó la presencia de 3 proteínas presentes en los *rafts* descritas en la literatura: flotilina-1, flotilina-2 [10], y caveolina-1 [11]. Estas proteínas se han usado como marcadores en diversos tipos celulares, y también se han descrito en espermatozoides de otras especies: caveolina-1, en ratón y cobaya [4]; flotilina-2 en humano [5]; flotilina-1, en ovino [6]. Se determinó su presencia o ausencia en espermatozoides ovinos mediante Dot Blot y Western Blotting. La técnica del Dot Blot se descartó dado que los controles sin anticuerpo primario también mostraban señal. Por su parte, el Western Blotting permitió identificar la presencia de *rafts* de las fracciones arriba mencionadas. Con el anticuerpo anti-caveolina-1 se identificaron bandas en varias fracciones, principalmente en las fracciones 5, 7, 8, y muy débilmente en las últimas. Se encontraron tres bandas en torno a los 40-45 kDa. De acuerdo al peso molecular descrito para esta proteína, 22 kDa, las bandas observadas podrían corresponder a homodímeros. También se pudo observar otra banda de alto peso molecular en torno a los 100 kDa. El Ac anti-flotilina-2 detectó bandas en las fracciones 10, 11, y 12, situadas entre 36 y 45 kDa. El peso molecular de esta proteína es de 36 kDa. Dichas bandas podrían corresponder a diferentes isoformas de dicha proteína. El último anticuerpo ensayado, anti-flotilina-1, no dio resultado, por lo cual se descartó para este estudio. Hasta el momento sólo se ha descrito un marcador proteico de rafts lipídicos en espermatozoides ovinos, tratándose de flotilina-1 [6], resultado opuesto al del presente trabajo. Por ello, se intentó ratificar estos resultados mediante inmunocitoquímica, y se pudo confirmar la ausencia de flotilina-1, ya que no se obtuvo marcaje alguno. Sin embargo, la caveolina-1 ofreció un marcaje en acrosoma y flagelo.

Otro marcador utilizado en este estudio fue la subunidad B de la toxina del cólera, que se une al gangliósido GM1, lípido muy abundante en rafts. Dado que la toxina estaba conjugada con un fluorocromo, la identificación del gangliósido pudo realizarse mediante microscopía de fluorescencia. Se observó marcaje postacrosomal.



**Figura 2.- Presencia de gangliósido GM1 en espermatozoides ovinos.**

Los resultados del presente trabajo asientan las bases de un estudio más profundo que abarcará el análisis bioquímico de los cambios que los *rafts* lipídicos experimentan durante la capacitación y la reacción acrosómica. Asimismo, se analizará el efecto que el proceso de congelación puede tener sobre estos microdominios. Como interés particular, analizaremos si las proteínas del plasma seminal con efecto protector y reparador frente al frío descritas por nuestro grupo [9] interaccionan con los *rafts* lipídicos, y en el caso de que así sea, cómo es dicha interacción y su influencia en la funcionalidad del espermatozoide.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simons, K., Ikonen, E.; Nature 387 (6633): 569-72; 1997
2. Brown, D. A., London, E.; Annu Rev Cell Dev Biol 14: 111-36; 1998
3. Dráber, P., Dráverová, L.; Molecular Immunology 38: 1247-52; 2001
4. Travis, A.J., Merdushev, T., Vargas, L.A., Jones, B.H., Purdon, M.A., Nipper, R.W., Galatioto, J., Moss, S.B., Hunnicutt, G.R., Kopf, G.S.; Dev Biol 240: 599-610; 2001
5. Cross, N.L.; Biol Reprod; 2004
6. Ecroyd, H., Sarradin, P., Dacheux, J. L., Gatti, J. L. ; Biol Reprod 71 (3): 993-1001; 2004
7. Shadan, S., James, P.P., Howes, E.A., Jones, R.; Biol Reprod 71: 253-65; 2004
8. Pérez-Pé, R, Grasa, P, Fernández-Juan, M, Peleato, ML, Cebrián-Pérez, JA, Muiño-Blanco, MT; Mol Reprod Dev 61 (2): 226-33; 2002
9. Barrios, B., Pérez-Pé, R., Gallego, M., Tato, A., Osada, J., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J.A.; Biol Reprod 63: 1531-1537; 2000
10. Bickel, P. E., Scherer, P. E., Schnitzer, J. E., Oh, P., Lisanti, M. P., Lodish, H.F.; J Biol Chem 272 (21): 13793-802; 1997
11. Volonte, D., Galbiati, F., Li, S., Nishiyama, K., Okamoto, T., Lisanti, M. P.; J Biol Chem 274 (18): 12702-9; 1999

**Este trabajo ha sido financiado por las ayudas CICYT-FEDER AGL 2002-00097, INIA RZ-03-035 y CICYT-FEDER AGL 2004-02882**

## **EFFECTO DEL GM-CSF SOBRE LA CRIOCONSERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES OVINOS**

Flores E.<sup>1</sup>, Palomo M.J.<sup>1</sup>, Concha I.<sup>2</sup>, Rauch C.<sup>2</sup>, Rodriguez-Gil J.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Reproducción Animal, Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Barcelona.

<sup>2</sup>Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile.

### **INTRODUCCIÓN**

El factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF) es una citoquina capaz de estimular la proliferación, maduración y función de las células hematopoyéticas (Gasson, 1991). Estudios recientes han demostrado la presencia de receptores funcionales del GM-CSF en espermatozoides humanos y bovinos y su papel en el incremento del transporte de glucosa y vitamina C al interior de la célula (Zambrano y col., 2001). Este hecho, junto con la mejora observada en algunos de los parámetros de motilidad espermática tras la adición de este factor (Vilanova y col., 2003) sugieren que el GM-CSF podría tener un papel importante en la fisiología del espermatozoide.

Por otra parte, es ampliamente conocido que los espermatozoides de morueco son muy sensibles a los cambios extremos de temperatura (Salamon y Maxwell, 1995). De hecho, la crioconservación de espermatozoides ovinos se ha visto muy limitada en comparación con la de otros mamíferos domésticos, principalmente debido a que durante el proceso de congelación-descongelación, los espermatozoides ovinos sufren una dramática pérdida de heterogeneidad, viabilidad, motilidad y respuesta positiva al test de HOS (revisado por Curry, 2000). El objetivo del presente trabajo fue determinar si la adición del GM-CSF en el medio de congelación de espermatozoides de morueco podría mejorar las características seminales tras su descongelación.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 2 moruecos de raza Xisqueta de 2 años de edad aproximadamente y de peso y condición corporal similares, a los que se les extrajo semen 2 veces por semana durante su época reproductiva con ayuda de una vagina artificial. Tras la obtención del eyaculado, se determinó la motilidad masal y la concentración espermática con el fin de descartar aquellos que presentaban valores, para estos parámetros, extremadamente bajos. A continuación se tomó una primera alícuota diluida en el medio de congelación (Tris 1,82 g, glucosa 0,25 g, ácido cítrico 0,995 g, yema de huevo 7,5 ml, glicerol 2,5 ml y agua destilada hasta 50 ml) (Evans y Maxwell, 1987) para valorar diferentes parámetros de motilidad mediante S.C.A. (Microptic versión 5.1, Barcelona), otra para valorar la morfología y viabilidad de los espermatozoides mediante la tinción de eosina/nigrosina (Hancock, 1951) y una tercera para estudiar la integridad de la membrana plasmática mediante el test de endósmosis celular (HOST) descrito por Jeyendran y col. (1984), determinando el número de

espermatozoides que presentaban la cola enrollada tras la incubación en un medio hipoosmótico (150 mOsm.). Simultáneamente, el resto del eyaculado de cada macho se dividió en 2 partes, un grupo control que se diluyó con el medio de congelación y otro grupo diluido con este mismo medio al cual se le había añadido 5 nM de GM-CSF. Seguidamente se envasaron las muestras en pajuelas de 0,25 ml y se sometieron a un periodo de estabilización de 2 horas a 5 °C. Posteriormente, se procedió a la congelación depositando las pajuelas en una gradilla situada 3 cm por encima del nivel de nitrógeno líquido durante 8 minutos y transcurrido este tiempo se sumergieron en él. Para la descongelación se sometieron las pajuelas a 37 °C en un baño María durante 15 segundos y se analizaron los mismos parámetros que en el semen fresco (motilidad, viabilidad e integridad de la membrana plasmática). Los datos de viabilidad e integridad de la membrana plasmática obtenidos se analizaron mediante el análisis de la varianza incluyendo como factores el tratamiento, la fecha y el macho, utilizando el Modelo Lineal Generalizado (GLM) del programa estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Los datos de motilidad fueron analizados mediante ANOVA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. A pesar de ser todavía preliminares, se observaron diferencias significativas para la viabilidad y la integridad de la membrana plasmática cuando se comparó el semen fresco y el congelado con o sin GM-CSF. En cambio, no se pudieron apreciar diferencias significativas entre los dos tratamientos de congelación, control y con factor, aunque las estimas son ligeramente superiores en la congelación con GM-CSF.

Para la motilidad se estudiaron diversos parámetros como la motilidad total, la VCL (velocidad curvilínea), la VSL (velocidad rectilínea), la VAP (velocidad media), LIN (índice de linealidad), STR (índice de rectitud), WOB (índice de oscilación), ALHMed (amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza), ALHMax (amplitud máxima del desplazamiento lateral de la cabeza), DNC (*dance*), DNM (*dance* medio), AV (velocidad angular media), MADAbs (desplazamiento angular medio absoluto), BCF (frecuencia de batida de la cabeza), HLO (menor oscilación armónica de la cabeza), HHI (mayor oscilación armónica de la cabeza) y HME (oscilación media de la cabeza). Tras su análisis, se detectó el mismo efecto negativo de los tratamientos de congelación sobre casi todos los parámetros evaluados, excepto para la BCF y la HLO, donde el semen congelado con GM-CSF mostró valores que no difirieron significativamente del semen fresco. Al comparar los dos tratamientos de congelación, se observaron diferencias significativas en la motilidad total, LIN, STR, WOB, ALHMax y MADAbs, mejorando el tratamiento con GM-CSF dichos parámetros.

Estos resultados parecen indicar que el factor GM-CSF mejora algunos de los parámetros de calidad seminal como la motilidad total y el índice de linealidad de los espermatozoides ovinos, tal y como vieron otros investigadores en espermatozoides humanos y bovinos (Vilanova y col., 2003). Asimismo, otras características del movimiento espermático se han visto favorecidas con la adición de este factor en el medio de congelación, llegando incluso algunas de ellas a no diferir del semen fresco, anulando así algunos de los efectos negativos del proceso de crioconservación. Por lo

tanto, el GM-CSF podría utilizarse como uno de los factores implicados en la optimización de la crioconservación de semen de morueco.

**Tabla 1.** Efecto del GM-CSF en la congelación de semen de morueco para diferentes parámetros de calidad seminal.

PARÁMETRO	SEMEN FRESCO	DESCONGELADO CONTROL	DESCONGELADO CON GM-CSF
Viabilidad (%)	62,2 <sup>a</sup> (+5,2)	25,0 <sup>b</sup> (+5,2)	26,8 <sup>b</sup> (+6,4)
HOST (%)	38,0 <sup>a</sup> (+4,3)	6,7 <sup>b</sup> (+2,3)	9,5 <sup>b</sup> (+3,2)
Motilidad total (%)	80,9 <sup>a</sup> (+1,5)	32,7 <sup>b</sup> (+3,9)	48,2 <sup>c</sup> (+4,0)
VCL (µm/sg)	79,7 <sup>a</sup> (+2,4)	47,3 <sup>b</sup> (+1,9)	49,9 <sup>b</sup> (+1,6)
VSL (µm/sg)	46,2 <sup>a</sup> (+4,1)	15,8 <sup>b</sup> (+1,7)	16,3 <sup>b</sup> (+1,3)
VAP (µm/sg)	58,6 <sup>a</sup> (+2,7)	23,4 <sup>b</sup> (+1,7)	24,4 <sup>b</sup> (+1,6)
LIN (%)	62,6 <sup>a</sup> (+2,0)	27,5 <sup>b</sup> (+2,7)	31,9 <sup>c</sup> (+1,4)
STR (%)	82,7 <sup>a</sup> (+1,3)	52,0 <sup>b</sup> (+4,3)	58,6 <sup>c</sup> (+1,4)
WOB (%)	71,7 <sup>a</sup> (+1,6)	45,5 <sup>b</sup> (+1,8)	48,9 <sup>c</sup> (+1,6)
Lamed (µm)	2,5 <sup>a</sup> (+0,08)	2,1 <sup>b</sup> (+0,08)	2,2 <sup>b</sup> (+0,05)
ALHMax (µm)	6,4 <sup>a</sup> (+0,2)	5,3 <sup>b</sup> (+0,1)	5,6 <sup>c</sup> (+0,1)
DNC (µm <sup>2</sup> /sg)	232,9 <sup>a</sup> (+12,4)	129,3 <sup>b</sup> (+8,8)	137,3 <sup>b</sup> (+6,4)
DNM (µm <sup>2</sup> /sg)	0,07 <sup>a</sup> (+0,00)	0,1 <sup>b</sup> (+0,01)	0,1 <sup>b</sup> (+0,01)
AV (grados angulares)	49,3 <sup>a</sup> (+2,4)	19,7 <sup>b</sup> (+1,2)	20,9 <sup>b</sup> (+1,1)
MADAbs (µm)	57,8 <sup>a</sup> (+2,8)	77,9 <sup>b</sup> (+2,2)	71,8 <sup>c</sup> (+0,6)
BCF (Hz)	15,4 <sup>a</sup> (+0,3)	19,4 <sup>b</sup> (+1,3)	15,3 <sup>a</sup> (+0,2)
HLO (µm)	0,2 <sup>a</sup> (+0,01)	0,1 <sup>b</sup> (+0,02)	0,2 <sup>a</sup> (+0,01)
HHI (µm)	2,6 <sup>a</sup> (+0,1)	1,8 <sup>b</sup> (+0,09)	1,8 <sup>b</sup> (+0,1)
HME (µm)	1,1 <sup>a</sup> (+0,04)	0,7 <sup>b</sup> (+0,06)	0,7 <sup>b</sup> (+0,05)

Resultados expresados como media ( $\pm$ EEM). Las medias con distinto superíndice difieren significativamente ( $P < 0,05$ ).

## BIBLIOGRAFÍA

- Curry MR. 2000. *Reviews of Reproduction*, 5:46-52.
- Evans G, Maxwell WMC. 1987. Salamon's Artificial Insemination of Sheeps and Goats. *Butterwoths*.
- Gasson JC. 1991. *Blood* 77:1131-1145.
- Hancock JL. 1951. *Nature*, 167:323-324.
- Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG, Zaneveld LJD. 1984. *J. Reprod. Fert.*, 70:219-228.
- Salamon S, Maxwell WMC. 1995. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 185-249.
- Vilanova LT, Rauch MC, Mansilla A, Zambrano A, Brito M, Werner E, Alfaro V, Cox JF, Concha I. 2003. *Theriogenology*, 60:1083-1095.
- Zambrano A, Noli C, Rauch MC, Werner E, Brito M, Amthauer R, Slebe JC, Vera JC, Concha I. 2001. *J. Cell. Biochem.*, 80:625-634.

## **EFFECTO DE LA CONSERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES OVINOS EN MEDIO SEMI-SÓLIDO (GEL) A 15° SOBRE SU CAPACIDAD DE PENETRACIÓN DE OOCITOS HOMÓLOGOS**

J. Yániz<sup>1</sup>, J.I. Martí<sup>2</sup>, M.A. Silvestre<sup>1</sup>, J. Folch<sup>2</sup>, P. Santolaria<sup>1</sup>, J.L. Alabart<sup>2</sup>, F. López-Gatius<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Escuela Politécnica Superior de Huesca, Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Huesca.

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, Departamento de Producción Animal, PO Box 727, Zaragoza;

<sup>3</sup>Departamento de Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida.

### **INTRODUCCIÓN**

La inseminación artificial (IA) en ovino se ve limitada por la baja fertilidad obtenida tras la inseminación cervical convencional, especialmente cuando se utiliza semen congelado. La utilización de semen refrigerado ofrece ventajas prácticas y económicas: es barato, fácil de manejar y puede ser utilizado en inseminación cervical. Sin embargo, a pesar de los numerosos estudios designados para mejorar los diluyentes líquidos, la inadecuada conservación del semen es todavía un obstáculo para la utilización extensiva de semen fresco en programas de IA ovina.

En un trabajo previo realizado en conejos demostramos que la adición de 1,4 g/100 ml de gelatina al diluyente mantenía la capacidad fecundante de los espermatozoides durante 72 h. Por tanto, la utilización de diluyentes semi-sólidos puede ser una alternativa interesante a la conservación convencional del semen en medio líquido. El objetivo de este estudio fue investigar los beneficios del almacenamiento del semen en medio semi-sólido a 15°C sobre la tasa de penetración in vitro de oocitos ovinos maduros, tras 24 horas de almacenamiento del semen.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Todos los reactivos se obtuvieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), salvo que se indique lo contrario, y los diluyentes se realizaron con agua Milli-Q (Millipore Ibérica S.A., Barcelona). El diluyente líquido estándar (CONTROL) era leche UHT desnatada (0,7% de grasa) mas antibióticos (2000 IU/ml penicilina y 0.4 mg/ml estreptomina) (Evans y Maxwell, 1987). El diluyente GEL para almacenamiento sólido se preparó mediante la adición de 1.5 % (w/v) gelatina tipo A, 240° Bloom, al diluyente líquido estándar.

El semen se recogió mediante vagina artificial de 4 moruecos adultos de la raza Rasa Aragonesa alojados en las instalaciones del CITA-DGA, siguiendo un manejo nutricional uniforme. Para evitar diferencias individuales, en cada ensayo se utilizó una mezcla del

segundo eyaculado de los 4 moruecos. La concentración de la mezcla se calculó colocando 6 µl de en una cámara de Neubauer, y contando por duplicado a 100X. Las muestras de semen se diluyeron con los diluyentes mencionados hasta  $400 \times 10^6$  de espermatozoides/ml, y se almacenaron en pajuelas de 0.25 ml a 15° C en un EQUITAINER®. La dilución se realizó a 30° C tanto en el diluyente Control como en el Gel.

El test de penetración in vitro de oocitos homólogos (hIVP) se realizó de la siguiente manera: tras recoger en un matadero ovarios de corderas de entre 80 y 90 días de edad, se transportaron al laboratorio en menos de 30 minutos en una solución salina a 37°C. Los complejos cúmulos-ooocito (COCs) se recogieron de folículos entre 2-6 mm de diámetro mediante punción folicular. Los oocitos con al menos tres capas de células de la granulosa y citoplasma homogéneamente granulado se seleccionaron bajo un estereoscopio y se lavaron cuatro veces en Hepes-buffered Tissue Culture Medium 199 (H-TCM 199). Los COCs se maduraron en TCM 199 con un 10% de Suero Fetal de Ternero y una combinación de 10 IU/ml de gonadotropina coriónica humana (hCG) y 5 IU/ml de gonadotropina coriónica equina (eCG) (PG600, Intervet, Salamanca, España) en una atmósfera modificada de 5% de CO<sub>2</sub> en aire a 38,5°C .

Tras 24 horas de maduración, las células de la granulosa que rodeaban los oocitos se separaron completamente mediante una agitación cuidadosa en H-TCM-199 con 300 IU/ml de hialuronidasa. Los oocitos maduros se distribuyeron al azar en tres grupos y se transfirieron al medio de fecundación. Los espermatozoides móviles se obtuvieron mediante centrifugación del semen en un gradiente discontinuo de Percoll (Pharmacia, Uppsala, Sweden). Los espermatozoides de cada grupo se diluyeron para obtener una concentración final de  $2 \times 10^6$ /ml y se co-incubaron con 30-40 oocitos en 400 µl del medio de fecundación durante 18 h en una atmósfera modificada de 5% de CO<sub>2</sub> en aire a 38,5°C.

Al final del periodo de incubación, los oocitos se lavaron, se fijaron en etanol, y subsecuentemente se tiñeron durante 10 minutos con 1 µg/ml de Hoechst 33342 (bisbenzimidaz; Sigma). Los supuestos cigotos se montaron en portas con 100 % de glicerol y se evaluaron por medio de un microscopio de fluorescencia Leica para detectar signos de fecundación. Los oocitos se consideraron penetrados cuando se observó con claridad la presencia de uno o más pronúcleos.

Los datos de penetración espermática se compararon utilizando un test de Chi-cuadrado. El análisis estadístico se realizó con los procedimientos disponibles en el software SPSS 12.0 (Chicago, USA). Se consideraron diferencias significativas cuando  $P < 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las tasas de penetración de espermatozoides de morueco tras 2 y 24 horas de almacenamiento en los diluyentes CONTROL y GEL. Tras 24 horas de

almacenamiento del semen en el diluyente CONTROL, las tasas de fecundación disminuyeron significativamente en comparación con las del diluyente GEL ( $P < 0.05$ ).

Tabla 1. Efecto de la suplementación con gelatina y tiempo de almacenamiento en las tasas de penetración de semen de morueco para los diluyentes CONTROL (sin gelatina) y GEL (1.5 g gelatina en 100 mL diluyente).

	Oocitos (n)	Penetración (%)
Control 24 h	159	60 (37,26 %) <sup>a</sup>
Gel 24 h	164	85 (51,82%) <sup>b</sup>
Control 2 h	161	76 (47,80%) <sup>b</sup>

Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas detectadas por el test de Chi-cuadrado (a-b:  $P < 0.05$ ).

Que sepamos, este es el primer estudio que evalúa el efecto de la conservación del semen en medio semi-sólido sobre su capacidad de penetración de oocitos maduros. El almacenamiento en este diluyente puede tener dos efectos positivos: 1) se evita la sedimentación celular y, consecuentemente, se reducen los cambios en las características o composición del medio (Nagy y cols., 2002) y 2) se produce una inmovilización de los espermatozoides, disminuyendo su agotamiento metabólico y preservando su potencial fecundante (López Gatiús y cols., 2005).

## BIBLIOGRAFÍA

Evans G, Maxwell WMC. Salomon's artificial insemination of sheep and goats. Sydney: Butterworth Scientific, 1987.

López-Gatiús F, Sances G, Sancho M, Yániz J, Santolaria P, Gutiérrez R, López C, Núñez M, Núñez J, Soler C. Effect of solid storage at 15°C on subsequent motility and fertility of rabbit semen. *Theriogenology*. In press.

Nagy Sz, Sinkovics Gy, Kovács A. Viability and acrosome integrity of rabbit spermatozoa processed in a gelatin-supplemented extender. *Anim Reprod Sci* 2002;70:283-6.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Matadero Municipal de Huesca por su ayuda proporcionando ovarios de cordera. Este estudio ha sido financiado por Oviaragón S.C.L. (OTRI 2004-0134), Ministerio de Industria, Turismo y Comercio (CDTI 2004-0611, PROFIT FIT-010000-2004-208), y Universidad de Zaragoza (UZ-2002-cien-07).



## RENDIMIENTO SEXUAL EN MORUECOS DE RAZAS AUTÓCTONAS ARAGONESAS

Quintín, F.J.; Sevilla, E.; Hernández, M.; Pastor, F.; Vijil, E.; Soguero, J.  
CENSYRA-Movera (Zaragoza) Diputación General de Aragón

### INTRODUCCIÓN

Las funciones del CENSYRA, enmarcadas en programas nacionales (desarrollados por el MAPA) y autonómicos (realizados por el Departamento de Agricultura y Alimentación) se centran en la conservación de las razas en peligro de extinción, mejora genética de éstas y de las razas de fomento, a la vez que aplican técnicas de reproducción asistida para la difusión de la mejora obtenida. Dichas razas mantienen a lo largo del año unas características y un comportamiento sexual compatibles con una actividad reproductiva normal siempre que se realice una recogida de semen continuada como han descrito en las razas Rasa Aragonesa (Folch, 1983), Manchega (Vijil, 1986) y Karakul (Vijil y cols., 1987); no obstante tanto el comportamiento sexual como las características seminales y, consecuentemente, el rendimiento sexual traducido en número de dosis seminales obtenidas presentan oscilaciones a lo largo del año que deben ser consideradas a la hora de desarrollar los programas de IA.

### MATERIAL Y MÉTODOS

A lo largo de un año se han estudiado el comportamiento sexual de 19 moruecos adultos (9 de raza Ansotana, 5 de raza Cartera, 5 de raza Maellana), entrenados y mantenidos en el CENSYRA de Movera (Zaragoza) como núcleo de conservación de dichas razas.

Semanalmente cada uno de ellos era llevado a la sala de recogida y durante 10 minutos se mantenía en contacto con una hembra registrando:

- número de eyaculados obtenidos (*rendimiento en cubrición*)
- *número de dosis seminales* obtenidas de aquellos eyaculados (con una concentración de  $400 \times 10^6$  spz)
- *condiciones ambientales* en el periodo considerado, información proporcionada por la Estación Experimental de Aula-Dei (CSIC), considerando los registros contemporáneos referidos a temperatura media (°C), humedad media (%) e irradiación solar media ( $Wm^{-2}$ ) así como los desfases de temperatura+98 (30 + 63) días, humedad+108 (45 + 63) días e irradiación solar+153 (90 + 63) días.

Los datos obtenidos se han analizado con el paquete estadístico SPSS, aplicando el test de Levene para la comparación de medias y determinando el grado de correlación entre parámetros.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento sexual de los moruecos de las razas consideradas, traducido en el número de veces que han eyaculado durante los 10 minutos que han estado en contacto con la hembra, ha estado influenciado por la época del año en que se ha realizado la prueba. La **raza Ansotana** ha mostrado mínimos de  $1,51 \pm 0,06$  saltos durante la primavera ( $15,8 \pm 0,85$  dosis) que han aumentado a  $2,43 \pm 0,05$  ( $21,95 \pm 0,85$  dosis) y  $2,4 \pm 0,15$  saltos ( $18,54 \pm 1,28$  dosis) en el otoño e invierno, respectivamente. En la **raza Cartera** se han obtenido mínimos de 2 saltos durante la primavera y verano ( $17,29 \pm 1,03$  dosis y  $17,70 \pm 1,05$  dosis, respectivamente) frente a los  $2,7 \pm 0,06$  saltos de otoño ( $19,50 \pm 0,77$  dosis). Similares son los resultados en

la raza **Maellana** con  $1,72 \pm 0,07$  saltos en primavera ( $17,24 \pm 0,85$  dosis) y 3 saltos en otoño ( $28,51 \pm 1,27$  dosis). Sintetizando en periodos lumínicos creciente (enero-junio) y decreciente (julio-diciembre) se observan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para las razas Ansotana y Maellana, en cuanto al comportamiento y rendimiento sexual de los reproductores estudiados (Cuadro 1)

Cuadro 1.- Evolución del número de eyaculados y dosis seminales obtenidas a lo largo del año.

ESTACIÓN	ANSOTANA		CARTERA		MAELLANA	
	nº eyac	nº dosis	nº eyac	nº dosis	nº eyac	nº dosis
PRIMAVERA	$1,51 \pm 0,06$	$15,80 \pm 0,85$	$2,00 \pm 0,00$	$17,29 \pm 1,03$	$1,72 \pm 0,07$	$17,24 \pm 0,85$
VERANO	$2,00 \pm 0,00$	$22,51 \pm 1,12$	$2,00 \pm 0,00$	$17,70 \pm 1,05$	$2,20 \pm 0,11$	$22,60 \pm 2,08$
OTOÑO	$2,43 \pm 0,05$	$21,95 \pm 0,85$	$2,70 \pm 0,06$	$19,50 \pm 0,77$	$3,00 \pm 0,00$	$28,51 \pm 1,27$
INVIERNO	$2,40 \pm 0,15$	$18,54 \pm 1,28$	$2,67 \pm 0,18$	$18,83 \pm 1,17$	$2,31 \pm 0,22$	$21,50 \pm 1,73$

FOTOPERIODO						
CRECIENTE	$1,97 \pm 0,09$	$17,21 \pm 0,88$	$2,36 \pm 0,10$	$18,05 \pm 0,72$	$1,97 \pm 0,11$	$20,01 \pm 1,04$
DECRECIENTE	$2,34 \pm 0,04^*$	$22,08 \pm 0,58^*$	$2,56 \pm 0,06$	$19,21 \pm 0,74$	$2,76 \pm 0,06^*$	$25,36 \pm 1,08^*$
	$*p < (0,05)$				$*p < (0,05)$	

Desde el punto de vista estacional, el comportamiento sexual de los moruecos de las razas autóctonas aragonesas descritas se asimila a los descritos por Rincón y cols. (1995) en la raza Rasa Aragonesa, en la que establece la posibilidad de donación de semen durante cuatro días consecutivos durante el fotoperiodo creciente y cinco durante la fase decreciente. En razas extranjeras (Texel, Suffolk e Ile de France) se describen también comportamientos mínimos en primavera que se incrementan a partir de agosto y alcanzan su nivel más alto entre octubre y diciembre (Mandiki y cols., 1998) al igual que en la raza Manchega (Vjil, E., 1986). Tal evolución se atribuye al influjo del fotoperiodo decreciente que incrementa la actividad metabólica testicular originando un aumento de los niveles de metabolitos de testosterona responsables del incremento del impulso sexual aunque El-Alamy y cols. (2001) determina que el rendimiento espermático incrementado mediante recogidas de semen intensivas a través de fases de fotoperiodo artificiales coincide con una secreción incrementada de prolactina mientras que la secreción de testosterona sigue un ritmo endógeno circanual.

El fotoperiodo es responsable de la sincronización de la actividad reproductiva con el ambiente pero no del origen del ritmo reproductivo circanual y la melatonina es la responsable de informar sobre la longitud del día al eje reproductivo cambiando la sensibilidad al GnRH y modificando consecuentemente la secreción pulsátil de LH (Rosa y cols., 2003). En el estudio de los factores ambientales realizado observamos que el rendimiento sexual se correlaciona significativa y positivamente con la temperatura media desfasada 98 días y con la irradiación solar media desfasada 153 días, así como significativa y negativamente con la humedad relativa media desfasada 108 días en las razas descritas (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Correlaciones entre los factores ambientales y el número de saltos eyaculados y dosis seminales obtenidas.

	ANSOTANA		CARTERA		MAELLANA	
	nº eyac	nº dosis	nº eyac	nº dosis	nº eyac	nº dosis
temperatura media	- 0,08	0,15 *	- 0,06	-0,04	0,00	0,03
temperatura+98d	<b>0,35 **</b>	<b>0,23 **</b>	<b>0,27 **</b>	<b>0,11</b>	<b>0,64 **</b>	<b>0,53 **</b>
humedad r media	0,21 **	0,05	0,10	0,11	0,11	0,05
humedad r + 108d	<b>- 0,25 **</b>	<b>-0,22 **</b>	<b>- 0,14</b>	<b>-0,08</b>	<b>- 0,36 **</b>	<b>-0,28 **</b>
irradiación solar	- 0,23 **	-0,03	- 0,14	-0,20 *	- 0,08	-0,10
irrad. solar+153d	<b>0,43 **</b>	<b>0,18 **</b>	<b>0,50 **</b>	<b>0,19 *</b>	<b>0,58 **</b>	<b>0,40 **</b>

\*\* p<(0,01)

Se admite de forma general que el fotoperiodo es el factor ambiental básico que controla el proceso reproductivo del macho (Colas, 1983) y una vez más constatamos en nuestras razas autóctonas la alta correlación de la irradiación solar media (desfasada) con el ulterior comportamiento sexual, si bien observamos que no deben excluirse influencias tales como la temperatura y la humedad relativa desfasadas, que pueden llegar a tener una incidencia similar o superior (raza Maellana) al fotoperiodo, como describen Vijil y cols. (1987) para la raza Karakul.

### BIBLIOGRAFÍA

- Colas, G. (1983) "Factors affecting the quality of ram semen" en "Sheep Production": 453-465 (W. Haresing, ed.) Butterworths, Londres
- El-Alamy, M.A.; Foote, R.H.; Hare, E. (2001) "Sperm output and hormone concentrations in Finn and Dorset rams exposed to long- and short-day lighting" *Theriogenology* 56: 839-854
- Folch, J. (1983) "Estacionalidad sexual del morueco. Influencia de la época de nacimiento" *Monografía INIA* 42: 177-206
- Mandiki, S.N.M.; Derycke, G.; Bister, J.L.; Paquay, R. (1998) "Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams: 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity" *Small Ruminant Research* 28: 67-79
- Rincón Bravo, C; Quintín Casorran, F.J.; Sevilla Mur, E. (1995) "Potencial espermático en moruecos de raza Rasa Aragonesa e interrelaciones multifactoriales de su rendimiento útil" *Avances en Alimentación y Mejora Animal* Vol. 35 nº 6: 15-19
- Rosa, H.J.D.; Bryant, M.J. (2003) "Review Seasonality of reproduction in sheep" *Small Ruminant Research* 48: 155-171
- Vijil, E. (1986) "Influencia de los factores ambientales sobre la actividad reproductora del morueco" *Ovino ONE* Septiembre: 83-95
- Vijil Maeso, E.; González Abascal, C.; Ruiz-Poveda Lasala, J.; Ciudad Cantero, C. (1987) "Evolución estacional del diámetro testicular en el ovino Karakul: Repercusión sobre el comportamiento copulatorio y características seminales" *AYMA* vol. XXVII: 39-46

## COMPORTAMIENTO SEXUAL Y RENDIMIENTO SEMINAL EN MORUECOS DE RAZA ANSOTANA

Quintín, F.J.; Sevilla, E.; Hernández, M.; Pastor, F.; Vijil, E.; Soguero, J.  
CENSYRA-Movera (Zaragoza) Diputación General de Aragón

### INTRODUCCIÓN

Las diferencias raciales e individuales sugieren la necesidad de establecer para cada donante la evolución de los sucesivos eyaculados como paso previo para su empleo en IA. En la actualidad la actividad del CENSYRA, a la vez que lleva a cabo el Programa de Mejora de la raza Rasa Aragonesa (raza ovina autóctona de fomento), desarrolla proyectos para estudiar las características reproductivas y productivas de las razas autóctonas aragonesas, de protección especial (Ansotana, Cartera y Maellana) y fomento (Ojinegra de Teruel), mediante el estudio de los parámetros sexuales, tanto de comportamiento como de rendimiento.

### MATERIAL Y METODOS

A lo largo de un año se han estudiado el comportamiento y rendimiento sexual de 9 moruecos adultos de raza Ansotana, entrenados y mantenidos en el CENSYRA de Movera (Zaragoza) como núcleo de conservación de dicha raza.

Semanalmente cada uno de ellos era llevado a la sala de recogida y durante 10 minutos se mantenía en contacto con una hembra registrando:

- *Tiempo de reacción*, es decir, tiempo (segundos) transcurrido entre que el morueco entra en la sala de recogida y se obtiene el primer eyaculado y el intervalo entre eyaculados sucesivos.
- Número de eyaculados obtenidos (*rendimiento en cubrición*)
- Sobre cada eyaculado se realizaba una *contrastación* que determinaba:

volumen seminal (c.c.) valorado directamente en el colector.

motilidad masal determinada mediante escala de 0-5.

concentración (nº spz x 10<sup>6</sup>/c.c.) calculada mediante espectrofotometría.

viabilidad (% de espermatozoides muertos) y acrosomía (% de espermatozoides con el acrosoma anormal) mediante técnica de fluorescencia con yoduro de propidio y diacetato de carboxifluoresceína.

Los datos obtenidos se han analizado con el paquete estadístico SPSS, aplicando el test de Levene para la comparación de medias.

### RESULTADOS

El número de moruecos de los que se obtienen uno o dos eyaculados es del 100% (Cuadro 1 y 2), disminuyendo al 88,8% cuando los animales eyaculan tres veces (Cuadro 3) y al 44,4% cuando lo hacen cuatro veces (Cuadro 4).

Cuadro 1. Características seminales de moruecos de la raza Ansotana de los que se obtuvo un eyaculado durante el tiempo de control (10 minutos).

TR SALTO	VOLUME	M MASAL	CONCENTR	SPZ MRT	ACR	
1º	137,46	1,18 ±	4,19 ± 0,03	4.047,74 ± 46,58	7,49 ± 0,69	7,17 ± 0,6
N: 9 moruecos (100%)		n: 118 eyaculados				

Cuadro 2. Características seminales de moruecos de la raza Ansotana de los que se obtuvieron dos eyaculados durante el tiempo de control (10 minutos).

	TR SALTO	VOLUME	M MASAL	CONCENTR	SPZ MRT	ACR
1º	51,09 ±	1,07 ±	4,15 ± 0,05	3.964,25 ± 36,91	7,11 ± 0,46	7,2 ± 0,37
2º	224,18 ±	0,98 ±	4,17 ± 0,05	3.841,26 ± 33,15	7,21 ± 0,57	5,55 ± 0,39
N: 9 moruecos (100%)		n: 228 eyaculados				

Cuadro 3. Características seminales de moruecos de la raza Ansotana de los que se obtuvieron tres eyaculados durante el tiempo de control (10 minutos).

	TR SALTO	VOLUME	M MASAL	CONCENTR	SPZ MRT	ACR
1º	25,18 ±	1,08 ±	4,21 ± 0,05	3.975,97 ± 42,54	6,87 ± 0,68	5,62 ± 0,6
2º	88,69 ±	0,89 ±	4,22 ± 0,05	3.708,7 ± 73,36	5,44 ± 0,54	5,27 ± 0,48
3º	254,56	0,73 ±	4,23 ± 0,04	3.565,85 ± 56,78	7,38 ± 0,65	4,67 ± 0,49
N: 8 moruecos (88,8%)		n: 136 eyaculados				

Cuadro 4.- Características seminales de moruecos de la raza Ansotana de los que se obtuvieron cuatro eyaculados durante el tiempo de control (10 minutos).

	TR SALTO	VOLUME	M MASAL	CONCENTR	SPZ MRT	ACR
1º	33,67 ±	1,13 ±	4,29 ± 0,01	3.895,53 ± 85,49	7,5 ± 0,87	4,5 ± 0,96
2º	53,73 ±	0,87 ±	4,29 ± 0,01	3.784,67 ± 79,09	6,5 ± 0,67	4,17 ± 1,09
3º	113,53	0,69 ±	4,27 ± 0,01	3.264,13 ±	8,33 ± 1,01	4,42 ± 0,77
4º	255,53 ±	0,59 ±	4,28 ± 0,01	3.329,73 ±	6,83 ± 1,05	4,25 ± 0,92
N: 4 moruecos (44,4%)		n: 30 eyaculados				

El TR es diferente significativamente ( $p < 0,05$ ) dependiendo del número de veces que eyacula el reproductor durante el periodo de 10 minutos: cuando el donante eyacula una única vez demora un TR de  $137,46 \pm 15,15$  segundos; en caso de que el morueco eyacule dos veces, la primera recogida se realiza a los  $51,09 \pm 3,76$  segundos y la segunda tras un intervalo de  $224,18 \pm 9,7$  segundos; si el reproductor dona semen hasta tres veces, el primer eyaculado se obtiene a los  $25,18 \pm 1,97$  segundos con intervalos posteriores de  $88,69 \pm 4,97$  segundos y  $254,56 \pm 13,57$  segundos, respectivamente; por último, cuando eyacula hasta cuatro veces, el TR inicial es de  $33,67 \pm 5,78$  segundos con lapsos posteriores de  $53,73 \pm 4,92$ ,  $113,53 \pm 10,38$  y  $255,53 \pm 24,6$  segundos, respectivamente.

En cuanto a las características seminales fundamentalmente se encuentran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada sesión de salto en el volumen seminal y la concentración espermática.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo están en línea con los conseguidos por distintos autores tanto en razas extranjeras como españolas. Rincón y cols. (1995) establecen en la raza Rasa Aragonesa la posibilidad de donación de semen recurriendo a cuatro extracciones sucesivas con tiempos de latencia de 10-20 minutos si bien hemos de considerar que el volumen seminal, la concentración y la motilidad declinan gradualmente cuando se incrementa la frecuencia de eyaculación según las conclusiones de Kaya y cols. (2002) en sus estudios sobre deplección seminal en moruecos de raza Merino.

El tiempo de reacción es el sistema utilizado habitualmente para evaluar tanto la libido como el comportamiento copulatorio del morueco y parece estar más relacionado con características de desarrollo corporal (edad y peso vivo) que con parámetros sexuales (diámetro testicular y calidad seminal) (Vijil y cols., 1985). El tiempo de reacción descrito para las razas consideradas se asemeja al que describen Vijil y cols. (1987) para la raza Karakul ya que se observa un gran incremento entre el primer eyaculado y los posteriores, hecho que no se manifiesta en la raza Manchega, de comportamiento más homogéneo.

Los resultados que hemos obtenido en los sucesivos eyaculados en la raza Ansotana son similares a los descritos en las razas Karakul (Vijil y cols., 1987), Churra (Anel y cols., 1992) y Assaff (Alvarez y cols., 2003) con diferencias cuantitativas, correspondiendo los valores más elevados al primer eyaculado, lo suficientemente importantes como para determinar una neta diferencia en el rendimiento de dosis seminales/eyaculado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, M.; Kaabi, M.; Anel, L.; Anel, E.; Rodríguez, C.; Pérez, J.J.; Aparicio, N.; Méndez, P.; Martínez, S. (2003) "Variación estacional de la producción espermática en moruecos de la raza de ovino Assaf" *Tierras* nº 93: 25-27
- Anel, E.; Carbajo, M.; Domínguez, J.C.; Anel, L.; Boixo, J.C. (1992) "Utilización de moruecos de raza Churra mediante inseminación artificial" *Ovis* 18: 17-24
- Kaya, A.; Aksoy, M.; Tekeli, T. (2002) "Influence of ejaculation frequency on sperm characteristics, ionic composition and enzymatic activity of seminal plasma in rams" *Small Ruminant Research* 44: 153-158
- Rincón Bravo, C.; Quintín Casorran, F.J.; Sevilla Mur, E. (1995) "Potencial espermático en moruecos de raza Rasa Aragonesa e interrelaciones multifactoriales de su rendimiento útil" *Avances en Alimentación y Mejora Animal* Vol. 35 nº 6: 15-19
- Vijil Maeso, E.; Gonzalo Abascal, C.; Ciudad Cantero, C.; Ruiz-Poveda Lasala, J. (1985) "Jerarquía social, diámetro testicular, libido y calidad seminal en los moruecos de raza Manchega y Karakul" *ITEA* nº 60: 19-27
- Vijil, E.; Ruiz-Poveda, J.; Boixo, J.C.; Rodríguez, M.; Gonzalo, C. (1987) "Variaciones de los eyaculados sucesivos en las razas Manchega y Karakul" *III Jornadas Internacionales sobre Reproducción Animal e Inseminación Artificial* Córdoba: 133-139.

## **LA FERTILIDAD EN LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES OVINA DEPENDE DE LA PROGESTERONA, TASA DE OVULACIÓN Y LATERALIDAD DE LAS OVULACIONES DE LAS RECEPTORAS.**

J.L. Alabart<sup>1</sup>, J. Olivera<sup>2</sup>, A. Roche<sup>1</sup>, M.J. Cocero<sup>3</sup>, P. Sánchez<sup>1</sup>, J. Folch<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Tecn. en Prod. Animal. CITA de Aragón. Apdo 727, 50080-Zaragoza.

<sup>2</sup>Univ. de la República, Fac. de Veter., Ruta 3 Km 363. 60000 Paysandú, Uruguay.

<sup>3</sup>Dpto. Reproducción Animal. SGIT/INIA. Av. Puerta de Hierro s/n. 28040-Madrid.

### **INTRODUCCIÓN**

La importancia de la receptora en la supervivencia de los embriones transferidos se ha demostrado previamente (Olivera *et al.*, 2004). Un método sencillo que permitiese elegir las receptoras más apropiadas, mejoraría los resultados de los programas MOET ovinos.

En el presente trabajo se estudia la influencia de la progesterona plasmática, número de ovulaciones y su distribución en los ovarios (unilateral o bilateral) sobre la fertilidad de las receptoras de embriones, dentro de un programa MOET.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron los datos procedentes de 14 transferencias de embriones producidos por superovulación de ovejas Rasa Aragonesa con FSH ovina (Ovagen<sup>TM</sup>, ICPbio (UK) Ltd.). Los embriones se transfirieron en fresco 7 días tras la retirada de esponjas (estadio de mórula compacta-blastocisto) a receptoras Rasa Aragonesa tratadas con 400 UI de eCG (Foligon, Intervet) a la retirada de esponjas. A cada receptora se le transfirieron 2 embriones de buena calidad morfológica en el cuerno uterino ipsilateral al ovario con más ovulaciones. Las receptoras se clasificaron según el número total de ovulaciones y su distribución entre los ovarios (unilaterales: una o más ovulaciones, todas en un mismo ovario; bilaterales: 2 ó más ovulaciones, distribuidas en ambos ovarios). De un total de 281 receptoras, presentaron ovulación cuádruple, quintuple y séxtuple bilateral sólo 4, 3 y 1, respectivamente, por lo que se agruparon en una sola categoría ( $\geq 4$  Bi). Sólo 2 ovejas presentaron ovulaciones cuádruple y quintuple unilaterales, respectivamente, por lo que se excluyeron del estudio. Por tanto, las 279 ovejas restantes quedaron agrupadas en 6 tipos de ovulación: 1Uni, 2Uni, 2Bi, 3Uni, 3Bi y  $\geq 4$  Bi. La progesterona plasmática de las receptoras el día anterior a la transferencia se midió mediante kits comerciales (Coat-A-Count®, DPC, USA). La fertilidad se determinó por ecografía externa a 45 días y se confirmó al parto.

La fertilidad observada se comparó entre grupos de tipo de ovulación mediante la prueba de chi-cuadrado. Las concentraciones de progesterona se compararon mediante ANOVA de una vía y prueba de Duncan. La influencia del tipo de ovulación y concentración de progesterona sobre la fertilidad se analizaron mediante regresión logística, utilizando el procedimiento PROC LOGISTIC del paquete estadístico SAS (SAS, 1999).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados obtenidos y la predicción del modelo propuesto se recogen en la tabla 1 y figura 1. Se observa que la fertilidad de las receptoras con ovulación doble bilateral fue la más alta de todas, siendo 17.1% mayor que aquellas con ovulación doble unilateral, 19.6% mayor que las de una ovulación y 36.7% mayor que aquellas con 4 ó más ovulaciones distribuidas en ambos ovarios (cada una de estas diferencias,  $P < 0.01$ ; tabla 1). No hubo diferencias significativas de fertilidad entre las receptoras con tasa de ovulación 2 bilateral y 3 bilateral, ni entre las de tipo 3 bilateral con las de 3 unilateral.

Tabla 1: Resultados de progesterona (media  $\pm$  error estándar), fertilidad observada y predicha por el modelo según el tipo de ovulación: Bi: bilateral (ovulaciones en ambos ovarios); Uni: unilateral (ovulaciones en un ovario). Cuando la tasa de ovulación es 1, sólo puede ser unilateral (representada como:1 (Uni)). N: número de receptoras.

GRUPO	N	Progesterona (ng/ml)	Fertilidad observada (%)	Fertilidad predicha (%)
2 Bi	90	4.0 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	86.7 <sup>a</sup>	87.2
3 Bi	24	4.4 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	79.2 <sup>ab</sup>	79.9
3 Uni	12	4.6 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	75.0 <sup>ab</sup>	75.5
2 Uni	69	3.8 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	69.6 <sup>b</sup>	69.9
1 (Uni)	76	2.7 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>	67.1 <sup>b</sup>	67.4
$\geq$ 4Bi	8	5.6 $\pm$ 1.04 <sup>c</sup>	50.0 <sup>b</sup>	50.9

Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas ( $P < 0.01$ ).

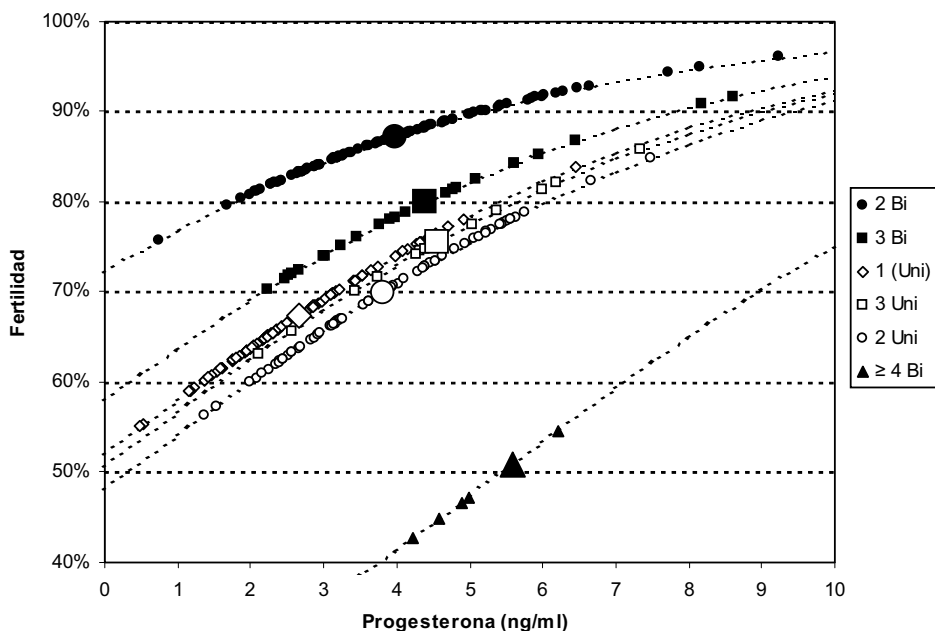


Figura 1. Fertilidad predicha por el modelo en función de la concentración de progesterona plasmática y tipo de ovulación: Bi: bilateral (ovulaciones en ambos ovarios); Uni: unilateral (ovulaciones en un ovario). Cuando la tasa de ovulación es 1, sólo puede ser unilateral (representada como:1 (Uni)). Los símbolos gruesos representan la fertilidad predicha por el modelo para ese grupo. No se encuentran representadas 3 ovejas del grupo  $\geq$ 4Bi: una cuya concentración de progesterona excede los 10 ng/ml y 2 cuya fertilidad predicha fue menor de 0.4 (40%).

En cuanto a la progesterona, observamos que no existen diferencias significativas entre las receptoras con ovulación de tipo 2 ó 3 bilateral y 2 ó 3 unilateral. La progesterona de las que tuvieron 2 ó 3 ovulaciones fue



significativamente mayor que las que tuvieron una ovulación y significativamente menor que las que tuvieron 4 ó más ovulaciones (en ambos casos,  $P < 0.01$ ; tabla 1).

El modelo propuesto se ajustó bien a los datos reales (prueba de Hosmer y Lemeshow:  $P < 0.56$ ), siendo muy similares las fertilidades predichas a las observadas en cada grupo (tabla 1). Como puede observarse en la figura 1, la fertilidad aumenta conforme aumenta la progesterona dentro del rango observado. Independientemente del tipo de ovulación, el incremento en el odd-ratio (OR) se estimó en 1.273 por cada ng/ml ( $P < 0.0001$ ). Esto quiere decir que el cociente entre receptoras gestantes y vacías se incrementa en un 27.3% por cada ng/ml, lo que significaría, por ejemplo, un incremento de fertilidad desde el 50 al 56%, ó desde el 70 al 74.8%. En la figura 1 también se observa que los grupos con ovulación unilateral (de tasas de ovulación 1, 2, ó 3), a igualdad de concentración de progesterona, tienen una fertilidad muy similar, ya que las 3 líneas están muy próximas. Sin embargo, las receptoras con tasa de ovulación doble bilateral tienen una fertilidad significativamente superior respecto a las de ovulación doble unilateral ( $OR = 2.81$ ;  $P < 0.05$ ), a las de ovulación simple ( $OR = 2.39$ ;  $P < 0.05$ ), al conjunto de unilaterales (1+2+3;  $OR = 2.57$ ;  $P < 0.05$ ) y a las de 4 ó más ovulaciones bilaterales ( $OR = 9.68$ ;  $P < 0.01$ ). Éstas tienen una fertilidad mucho más baja que el resto ( $OR = 0.21$ ;  $P < 0.05$ ). Las receptoras con ovulación triple bilateral tienen una fertilidad algo mayor que las de ovulación triple unilateral ( $OR = 1.35$ ), y que el total de unilaterales ( $OR = 1.37$ ), pero menor que las de tipo doble bilateral ( $OR = 0.53$ ), aunque no se alcanzó la significación estadística en ninguno de los casos, debido en parte al menor número de receptoras con ovulación triple bilateral.

Nuestros resultados indican que la fertilidad de las ovejas receptoras de embriones se ve favorecida por la progesterona, dentro del rango estudiado, para cualquier tipo de ovulación. Las ovejas con tasa de ovulación doble bilateral se deberían elegir preferentemente como receptoras de embriones, seguidas de las de ovulación triple bilateral. Por el contrario, aquellas con 4 ó más ovulaciones deberían descartarse.

La mayor fertilidad observada en receptoras con ovulación bilateral podría ser debida a 2 mecanismos. Se sabe que cuando hay 2 embriones en el mismo cuerno, uno de ellos migra al otro cuerno casi siempre y que el reconocimiento materno de la gestación (detención de la señal luteolítica) es un proceso local, basado en la acción del interferón  $\tau$  sobre los cuerpos lúteos del ovario ipsilateral. Sin embargo, no se sabe con certeza si el reconocimiento materno de la gestación es anterior o posterior a la migración embrionaria. Así, si fuera posterior a la migración, la gestación estaría asegurada con la señal antiluteolítica de cualquiera de los 2 embriones en las receptoras con ovulaciones bilaterales. Por el contrario, en el caso de las receptoras con ovulaciones de tipo unilateral, la gestación se perdería si el embrión que quedase en el cuerno ipsilateral al ovario ovulado no fuese capaz de detener a tiempo la luteolisis, ya que el embrión que hubiese migrado al cuerno contralateral no podría hacerlo. El otro mecanismo partiría de la hipótesis de que el ambiente uterino fuese más favorable en el cuerno ipsilateral a un ovario ovulado, lo que propiciaría una mayor supervivencia embrionaria en las ovejas con ovulaciones bilaterales que se traduciría en un incremento de su fertilidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Olivera J, Alabart JL, Folch J (2004). Embryo and maternal roles on embryo survival within a MOET sheep program. *Reprod Fertil Develop* 16(4): 514.  
SAS (1999). SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.

---

Trabajo cofinanciado por FEDER-INIA (proyecto SC00-051-C2-2), Ministerio de Industria (proyecto CDTI 1999/0341) y AECI (beca predoctoral). Se agradece la colaboración técnica de E. Echegoyen e I. Escota.

## **EFFECTO DE UN TRATAMIENTO DE PREMADURACIÓN CON ROSCOVITINA PREVIO A LA VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS DE TERNERA EN ESTADIO DE VESÍCULA GERMINAL ROTA SOBRE EL POSTERIOR DESARROLLO EMBRIONARIO**

Morató R<sup>1</sup>, Albarracín JL<sup>1</sup>, Izquierdo D<sup>2</sup> y Mogas T<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina y Cirugía Animales. <sup>2</sup> Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.

### **INTRODUCCIÓN**

Los ovocitos bovinos son mucho más difíciles de congelar que los embriones en los primeros estadios de desarrollo.

Para ello se han desarrollado diferentes protocolos de congelación lenta (1,2), rápida (3) y ultrarrápida (4) pero ninguno de ellos ha conseguido resultados consistentes. La vitrificación se presenta como una técnica alternativa para la crioconservación de ovocitos ya que permite preservar mejor su compleja estructura (5).

El estadio de maduración nuclear también es un factor que afecta la capacidad de supervivencia del ovocito a la crioconservación. Generalmente, los esfuerzos están focalizados en la crioconservación de ovocitos maduros, pero en este estadio, el proceso induce cambios estructurales que afectan al subsiguiente desarrollo embrionario (6). La elección de un estadio intermedio, como puede ser el estadio de vesícula germinal rota (GVBD), podría permitir reducir los problemas asociados a la crioconservación de ovocitos en estadio de vesícula germinal (GV) o metafase II (MII).

Diferentes trabajos describen una menor capacidad de desarrollo embrionario de los ovocitos procedentes de animales prepúberes respecto a los de animales adultos y lo atribuyen a una falta o incapacidad para completar la maduración citoplasmática. Estudios recientes muestran que si se cultivan los ovocitos antes de la maduración *in vitro* bajo condiciones que bloqueen la reanudación de la meiosis, éstos pueden adquirir mayor capacidad de desarrollo permitiendo a los ovocitos completar dicha maduración (7).

La roscovitina (ROS), un inhibidor específico de la quinasa cdc2, es capaz de inhibir el reanudación meiótica de forma reversible en ovocitos de vaca durante 24 horas sin producir efectos negativos sobre el posterior desarrollo embrionario (8-9).

En este trabajo, se estudió la influencia de un tratamiento de premaduración con ROS previo a la vitrificación de ovocitos de ternera en estadio de GVBD, evaluando su efecto en la supervivencia y la capacidad de éstos para ser fecundados y desarrollarse hasta los primeros estadios embrionarios.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

**Maduración, fecundación y cultivo embrionario *in vitro*.** La maduración, la fecundación y el cultivo embrionario *in vitro* se realizaron según el protocolo descrito por Rizos et al. (10). Brevemente, se recogieron ovarios de terneras en el matadero y se transportaron al laboratorio en PBS a 37°C. Los ovocitos se obtuvieron mediante aspiración y se seleccionaron aquellos ovocitos que presentaban un citoplasma homogéneo con tres o más capas de células del cúmulus. La maduración se realizó en medio TCM 199 suplementado con un 10% de suero fetal bovino (SFB) y 10µg/ml de Epidermal Growth Factor (EGF) durante 24 horas a 38,5°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> en aire.

Para la fecundación *in vitro*, los ovocitos fueron transferidos a 250  $\mu$ l de medio de fecundación (Medio Tyrode suplementado con 25 mM bicarbonato, 22 mM lactato sódico, 1 mM piruvato sódico, 6 mg/ml albúmina sérica bovina (BSA) y 10  $\mu$ g/ml heparina sódica). Se utilizó semen de toro congelado y los espermatozoides se seleccionaron mediante centrifugación en un gradiente discontinuo de Percoll a 700g durante 8 minutos. Tras el recuento celular, se colocaron 250 $\mu$ l de la suspensión espermática junto con los ovocitos (concentración final:  $1 \times 10^6$  espermatozoides/ml) y se co-cultivaron a 38,5°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> en aire.

A las 24 horas post-inseminación (hpi), los presuntos cigotos fueron desnudados y transferidos a microgotas de medio SOF suplementado con BSA. Se evaluó el porcentaje de división celular a las 48 hpi, contabilizando los embriones que se encontraban en el estadio de 2-4 células y el desarrollo hasta blastocisto a los 8 días post-inseminación.

**Premaduración con Roscovitina:** La solución stock de roscovitina se preparó a una concentración de 5mM en dimetil sulfóxido (DMSO) y fue alicuotada y almacenada a -20°C hasta su uso. Los ovocitos inmaduros fueron premadurados en TCM 199 suplementado con un 10% de SFB, 10 $\mu$ g/ml de EGF y 50  $\mu$ M ROS durante 24 horas a 38,5°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> en aire. Después del periodo de incubación, los ovocitos fueron lavados en PBS para eliminar el inhibidor y fueron cultivados en medio de maduración durante 24 h más a 38,5°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> en aire.

**Vitrificación:** A las 6 horas del inicio de la maduración *in vitro*, se vitrificaron los ovocitos mediante la técnica Open Pulled Straw (OPS). Para ello, se siguió el protocolo descrito por Vajta et al. (1998). Brevemente, los ovocitos fueron parcialmente desnudados y depositados en un medio TCM199-Hepes suplementado con un 20% SFB (HM). A continuación, los ovocitos (grupos de 2 a 3) se colocaron en HM suplementado con un 10% de Etilenglicol (EG) y un 10% DMSO durante 30 segundos y fueron transferidos a gotas de 20  $\mu$ l de HM 0.5M de sacarosa y suplementado con un 20% EG y un 20% DMSO. Inmediatamente se realizaron gotas de 1 a 2  $\mu$ l conteniendo los ovocitos que fueron introducidas en las pajuelas de OPS por capilaridad y sumergidas en N<sub>2</sub> líquido. El tiempo entre el contacto de los ovocitos con los crioprotectores de mayor osmolaridad y el N<sub>2</sub> líquido fue inferior a 25 segundos. La descongelación se realizó sumergiendo la punta de la pajuela de OPS directamente en HM suplementado con 0,25 M de sacarosa y los ovocitos se equilibraron en este medio durante 5 minutos. A continuación se transfirieron a HM 0,15 M de sacarosa durante 5 minutos, luego a HM durante 5 minutos y finalmente fueron transferidos directamente al medio de maduración anteriormente descrito para que prosiguieran la maduración *in vitro* durante 18 horas más.

Para evaluar la citotoxicidad provocada por los distintos crioprotectores (CPA), se siguió el procedimiento anteriormente descrito pero sin llegar a sumergir los ovocitos en N<sub>2</sub> líquido.

**Análisis estadístico.** La comparación estadística entre los grupos se llevó a cabo usando el test de  $\chi^2$  y se aceptaron diferencias significativas cuando  $P \leq 0,05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La exposición de los ovocitos de ternera a los CPAs (36,3%) o a la vitrificación (10,6%) en estadio de GVBD disminuyó significativamente el porcentaje de división embrionaria comparado con el grupo control (68,7%). Cuando los ovocitos premadurados con ROS fueron expuestos a los CPAs (13,1%) o vitrificados (1,6%) en estadio de GVBD, el porcentaje de división embrionaria obtenido disminuyó significativamente comparado con los ovocitos control (68,7%) o los ovocitos control-

ROS (56,6%). Tras el cultivo embrionario no se obtuvieron blastocistos de aquellos ovocitos expuestos a CPAs o vitrificados, independientemente de si fueron o no premadurados con ROS.

Men *et al.* (11) obtuvieron blastocistos después de vitrificar ovocitos de vaca en estadio de GVBD mediante la técnica de OPS. En este estudio, el porcentaje de blastocistos obtenido tras vitrificar ovocitos de ternera en estadio de GVBD fue nulo. Estos resultados pueden explicarse por la mayor sensibilidad que tienen los ovocitos de terneras a la vitrificación con respecto a los de vaca, lo cual ya fue descrito en estudios anteriores (12).

Tabla 1. Efecto de un tratamiento de premaduración con ROS (50µM) en la capacidad de desarrollo de ovocitos de ternera en estadio de GVBD después de una exposición a los CPAs o a la vitrificación por OPS.

	n	n (%) de ovocitos	
		División embrionaria	Desarrollo a blastocisto
Control	115	79 (68.7) a	12 (10.4) a
CPA	102	37 (36.3) b	0 (0) b
OPS	113	12 (10.6) c	0 (0) b
ROS-Control	113	64 (56.6) a	7 (6.2) a
ROS+CPA	115	15 (13.1) c	0 (0) b
ROS+OPS	128	2 (1.6) d	0 (0) b

Diferentes letras en una misma columna representan diferencias significativas, P<0.05

La hipótesis de que la premaduración *in vitro* bajo condiciones de bloqueo meiótico permitiría a los ovocitos completar la maduración citoplasmática (8,13) nos llevó a pensar que al someter a los ovocitos de ternera a un proceso de premaduración con roscovitina previo a la exposición a los CPAs y a la vitrificación permitiría mejorar su potencial de desarrollo embrionario, y así, la vitrificación en estadio de GVBD podría ser más eficiente debido a las ventajas estructurales para este estadio. Sin embargo, nuestros resultados no mostraron mejores porcentajes de división ni de desarrollo embrionario comparado con los ovocitos controles.

Los resultados anteriormente descritos indican que la premaduración con roscovitina previa a la vitrificación no tiene un efecto beneficioso en ovocitos de ternera vitrificados en estadio de GVBD mediante la técnica OPS.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lim, JM *et al.* (1992) *Theriogenology* 37:351-61
2. Suzuki, T *et al.* (1996) *Cryobiology* 33:515-24
3. Hoshi, S *et al.* (1997) *J mamm Ova Res* 14:61-5
4. Martino, A *et al.* (1996) *Biol Reprod* 54:1059-69
5. Vajta, G *et al.* (1998) *Mol Reprod Develop* 51: 53-58.
6. Saunders KM y Parks JE (1999) *Biol Reprod* 61:178-187
7. Fouladi Nashta, AA *et al.* (1998) *Biol Reprod* 59 (2) :255-262.
8. Mermillod, P *et al.* (2000) *Mol Reprod Develop* 55 (1) :89-95.
9. Albarracín, JL *et al.* (2004) *Reprod Dom Anim* 39 (4) :273.
10. Rizos, D *et al.* (2001) *Theriogenology* 56 (1) : 1-16.
11. Men, H *et al.* (2005) *Theriogenology* 57(3):1095-1103.
12. Albarracín, JL *et al.* (2005) *Theriogenology* 63: 890-901.
13. Lonergan, P *et al.* (2000) *Mol Reprod Develop* 57 (2):204-209.

## ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE P34<sup>cdc2</sup> Y CICLINA B1 EN DIFERENTES TAMAÑOS DE OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES

B. Anguita, AR. Jiménez-Macedo, D. Izquierdo, MT. Paramio  
Dpto. Ciència Animal i dels aliments. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra (Barcelona)

### INTRODUCCIÓN

En general la selección de ovocitos que van a ser utilizados en los programas de producción *in vitro* de embriones se realiza siguiendo criterios basados en su morfología y tamaño. Sin embargo, el porcentaje de blastocistos obtenidos hasta el momento en cabras prepúberes siguiendo estos criterios es bajo y variable, lo que nos hace sospechar que tal vez los criterios de selección utilizados no sean los más adecuados para seleccionar ovocitos competentes.

La utilización de ovarios obtenidos de hembras sacrificadas en matadero se caracteriza por una alta heterogeneidad en la calidad de los ovocitos, lo que repercute en los resultados obtenidos. Por lo tanto sería necesario establecer un criterio que nos permitiera homogeneizar la población ovocitaria, además de poder seleccionar sólo los ovocitos competentes para el desarrollo embrionario.

Se cree que la incompetencia ovocitaria puede ser debida a una incompleta maduración nuclear y/o citoplasmática. El principal regulador de la maduración nuclear es el *Maturation Promoting Factor* (MPF), y también se considera un posible regulador de la maduración citoplasmática (Naito y col, 1992). El MPF es un heterodímero con actividad serina-treonina kinasa, compuesto por una subunidad catalítica, la p34<sup>cdc2</sup>, y una subunidad reguladora, la Ciclina B1 (Labbé y col, 1989). Para que el complejo MPF pueda activarse es necesario que las 2 subunidades se unan y se produzca la fosforilación de los residuos thr 161, thr 14 y tyr 15 de la p34<sup>cdc2</sup>. El complejo sólo se activará cuando se dé la defosforilación de los residuos thr 14 y tyr 15 (Gautier y col, 1991). Esta activación dará lugar a la reanudación de la meiosis en el ovocito.

En numerosas especies se ha relacionado la falta de síntesis o actividad del MPF o algunas de sus subunidades con la incompetencia del ovocito. La síntesis de p34<sup>cdc2</sup> se considera el factor limitante para la adquisición de competencia meiótica en ratón (Chesnel y Eppig, 1995) y cabras adultas (Dedieu y col, 1998), mientras que la ciclina B1 se hipotetiza como el responsable de la reanudación de la meiosis en vacas (Lévesque y Sirard, 1996) y cerdos (Sun y col, 2001).

Por lo tanto, nuestra hipótesis de trabajo es que la falta de competencia de los ovocitos de cabras prepúberes podría explicarse por una falta en la síntesis de alguno de los componentes del MPF, lo que nos podría servir de marcador molecular para seleccionar sólo los ovocitos competentes antes de la MIV.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Los ovarios de cabra prepúberes (45-60 días) se obtuvieron en un matadero comercial. Los complejos cumulus-ovocitos (COCs) fueron liberados de sus folículos mediante la técnica de *slicing*, y únicamente se seleccionaron aquellos con al menos

tres capas compactas e intactas de células del cúmulus y citoplasma homogéneo. Una parte de los ovocitos obtenidos se utilizaron para realizar la MIV durante 27 horas en medio TCM199 suplementado con hormonas y cisteamina. El resto de los ovocitos, en el momento de la recolección, fueron desnudados y clasificados en 4 grupos según su diámetro: < 110 µm, 110-125 µm, 125-135 µm, > 135 µm. Tras las 27 horas, los ovocitos madurados también fueron desnudados y clasificados en los 4 grupos de tamaños anteriores. Una parte de los ovocitos medidos en el momento de la recolección y tras la MIV se utilizaron para determinar su estadio nuclear mediante tinción con lacmoide. El resto congelaron en nitrógeno líquido, y fueron almacenados a -80 °C. Los ovocitos almacenados fueron utilizados para el estudio de la transcripción de la p34<sup>cdc2</sup> y ciclina B1 mediante la RT-PCR semi-cuantitativa. Para ello, primero se realizó la extracción del RNA de grupos de 10 ovocitos mediante *TriReagent*® (Sigma). Antes de iniciar el proceso, se añadió a cada muestra 10 pg de mRNA de globina de conejo, que nos sirvió como control de eficiencia de los procesos de extracción de RNA y RT-PCR. Después de la extracción, se trató la muestra con 1 U/µl de DNAsa (Invitrogen) a 37°C durante 30 min para digerir el DNA genómico que pudiera haber quedado. La RT se realizó con el RNA correspondiente a 10 ovocitos utilizando el *ThermoScript RT-PCR System* (Invitrogen). El cDNA correspondiente a 2 ovocitos fue amplificado por PCR, utilizando los siguientes primers:

- p34 cdc2 *Forward*: 5'-GAATTAGCAACGAAGAAACC
- P34 cdc2 *Reverse* : 5'- GTACAATTATCTGCTCTTGAC
- Ciclina B1 *Forward*: 5'- GAGCCATCCTCATTGACTGGC
- Ciclina B1 *Reverse*: 5'- CTTAGATGCTCTCCGAAGG

Cada banda de amplificación fue cuantificada mediante densitometría con el programa *Quantity One* (BioRad). Cada valor fue normalizado respecto al mRNA de globina de conejo, que fue utilizado como control extrínseco de todo el proceso.

Los resultados obtenidos de estadio nuclear en el momento de la recolección y tras la MIV en los diferentes grupos de tamaño se analizaron mediante el test de Fisher, mientras que los resultados de RT-PCR fueron analizados con el test de ANOVA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A 0 horas observamos que la mayoría de ovocitos ya han reanudado la meiosis, y se relaciona positivamente con el tamaño ovocitario. Esta prematura reanudación podría ser indicador de que provienen de folículos atrésicos, lo que según Zeuner y col (2003) no supone una disminución de la competencia para el desarrollo de estos ovocitos. Tras la MIV, la capacidad de los ovocitos para llegar hasta MII también está relacionada con su tamaño. Sin embargo, no se observan diferencias significativas en cuanto al nivel de mRNA detectado de p34<sup>cdc2</sup> ni de ciclina B1, ni en el momento de la recolección ni tras la MIV. Por lo tanto, el uso de la expresión de estos genes no es un buen indicador de la competencia meiótica de los ovocitos de cabras prepúberes. No obstante, en la actualidad estamos realizando estudios de cuantificación proteica de las 2 subunidades del MPF así como de la actividad del complejo para poder complementar nuestros resultados. Así mismo, también estamos realizando un estudio sobre la competencia para el desarrollo embrionario

de cada grupo de tamaño de ovocitos para poderlo relacionar con nuestro estudio molecular.

Tabla 1. Estadío nuclear de ovocitos de cabras prepúberes en el momento de la recolección (0 horas) y tras la MIV (27 horas)

Ø (µm)	0 HORAS					27 HORAS				
	N	VG (%)	GVBD (%)	MI (%)	M II (%)	N	VG (%)	GVBD (%)	MI (%)	M II (%)
<110	75	62 (82.7) a	4 (5.3) a	2 (2.7)	0 (0)	138	117 (84.8) a	4 (2.9) ab	10 (7.2) a	5 (3.6) a
110-125	105	51 (48.6) b	28 (26.7) b	5 (4.7)	0 (0)	474	66 (13.9) b	19 (4) a	182 (38.4) b	200 (42.2) b
125-135	250	34 (13.6) c	161 (64.4) c	20 (8)	4 (1.6)	414	10 (2.4) c	7 (1.7) b	118 (28.5) c	267 (64.5) c
>135	198	3 (1.51) d	159 (80.3) d	15 (7.6)	4 (2)	70	0 (0) c	0 (0) ab	14 (20) c	50 (71.4) c

VG: vesícula germinal; GVBD: ruptura de VG; MI: metafase I; A-T: anafase-telofase MII: metafase II. Los valores en una misma columna con letras diferentes difieren significativamente (F, P< 0.05)

Tabla 2. Semi-cuantificación de la expresión del mRNA de p34cdc2 y Ciclina B1 en el momento de la recolección (0 horas) y tras la MIV (27 horas).

DIÁMETRO	0 HORAS (media±ds)		27 HORAS (media±ds)	
	P34 <sup>cdc2</sup> mRNA	CICLINA B1 mRNA	P34 <sup>cdc2</sup> mRNA	CICLINA B1 mRNA
<110 µm	0.36 ± 0.37 (n=5)	0.50 ± 0.07 (n=3)	0.41 ± 0.26 (n=7)	0.82 ± 0.45 (n=6)
110-125 µm	0.48 ± 0.55 (n=7)	0.96 ± 0.33 (n=6)	0.31 ± 0.30 (n=8)	0.90 ± 0.73 (n=7)
125-135 µm	0.29 ± 0.30 (n=7)	0.86 ± 0.33 (n=6)	0.25 ± 0.24 (n=7)	1.09 ± 0.87 (n=6)
>135 µm	0.27 ± 0.24 (n=8)	0.58 ± 0.37 (n=7)	0.27 ± 0.19 (n=7)	1.09 ± 0.74 (n=6)

Los valores en una misma columna con letras diferentes difieren significativamente (ANOVA, P< 0.05)

## REFERENCIAS

1. Chesnel F y Eppig JJ. 1995. Mol Reprod Dev 40, 503-508.
2. Dedieu T y col. 1998. Mol Reprod Dev 50, 251-262
3. Gautier J y col. 1991. Cell 67, 197-211.
4. Labbé JC y col. 1989. Cell 57, 253-263.
5. Lévesque JT y Sirard MA. 1996. Biol Reprod 55, 1427-1436.
6. Naito K y col. 1992. Biol Reprod 47, 43-47.
7. Sun QY y col. 2001. Mol Reprod Dev 59, 192-198.
8. Zeuner y col. 2003. Theriogenology 59 1421-1433.

## **INTERACCIÓN ESPERMATOZOIDE-ZONA PELÚCIDA EN LA ESPECIE BOVINA: PAPEL DEL ÁCIDO SIÁLICO Y DEL ENZIMA NEURAMINIDASA.**

JG Velasquez<sup>1</sup>, P Barajas<sup>1,2</sup>, J Marcos<sup>3</sup>, M Jiménez-Movilla<sup>3</sup>, R Gutiérrez-Gallego<sup>4</sup>, J Ballesta<sup>3</sup>, M Avilés<sup>3</sup>, P Coy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>CORPOICA y Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia; <sup>2</sup>Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, España; <sup>3</sup>Departamento de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, España;

<sup>4</sup>Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona, España

### **INTRODUCCIÓN**

La zona pelúcida (ZP) es una matriz extracelular que rodea a los ovocitos de mamíferos desde los estadios iniciales del proceso de foliculogénesis, permaneciendo a su alrededor durante la fecundación y hasta el momento de la eclosión del blastocisto. Esta matriz está formada por tres o cuatro proteínas altamente glicosiladas (glicoproteínas) según la especie (1-4). Entre otras funciones, la ZP debe interactuar con el espermatozoide fecundante para que éste la atraviese y alcance al oocito, y se ha evidenciado que los carbohidratos de sus glicoproteínas juegan un papel importante en este proceso de reconocimiento y unión (2,5).

Sin embargo, la identificación precisa de las moléculas implicadas no ha sido posible hasta el momento. Aunque se ha demostrado una modificación en el contenido de ácido siálico de la zona pelúcida (ZP) de ovocitos bovinos después de la fecundación (6), no existe ninguna evidencia de la implicación de estos residuos en la interacción espermatozoide-ZP.

Por otra parte, se sabe que tras la fecundación se produce un bloqueo de la polispermia para evitar la penetración de espermatozoides adicionales en el ovocito (7,8). Este bloqueo está directamente asociado en los mamíferos con la reacción cortical, provocada por la exocitosis del contenido de los gránulos corticales del ovocito, pero los mecanismos moleculares responsables de este bloqueo siguen siendo un tema sin esclarecer.

Por estas razones, los objetivos del presente trabajo fueron:

(1) investigar el papel del ácido siálico contenido en la ZP de ovocitos de vaca en la interacción espermatozoide-ZP,

(2) caracterizar el ácido siálico de la ZP de ovocitos de vaca mediante análisis químicos y citoquímicos,

(3) averiguar si la enzima neuraminidasa (sialidasa) tiene algún papel sobre el endurecimiento de la ZP y/o el mecanismo de bloqueo de la polispermia.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

La investigación se efectuó en ovocitos de vaca rodeados por 4 o más capas de células del *cumulus oophorus*, obtenidos de folículos ováricos de 2 a 6 mm de



diámetro. Para conseguir los objetivos propuestos, se desarrollaron cinco experiencias.

En la primera de ellas, realizamos cocultivos de ZPs aisladas con espermatozoides de toro en presencia de enzima neuraminidasa, así como ensayos de FIV en presencia de esta misma enzima.

En la segunda experiencia se probaron dos tipos diferentes de macromoléculas, lectinas (LFA, MAA y SNA) y anticuerpos monoclonales (anti sialil-Lewis<sup>a</sup> y sialil-Lewis<sup>x</sup>), con una especificidad conocida para diferentes tipos de residuos de ácido siálico, realizándose ensayos de unión espermatozoide-ZP para cuantificar su efecto inhibidor.

En la tercera experiencia dos carbohidratos (metil- $\alpha$ -manopiranososa y sialil-lactosa) y dos glicoproteínas (fetuina y asialofetuina), también fueron testadas mediante ensayos de unión espermatozoide-ZP, para estudiar el posible efecto en el bloqueo del receptor espermático para la ZP.

En la experiencia 4, caracterizamos los tipos de ácido siálico presentes en la ZP de ovocitos de vaca mediante análisis químicos y citoquímicos. Para ello se procedió al análisis del ácido siálico mediante HPLC en ZPs bovinas aisladas y se procesaron ovocitos fijados con glutaraldehído para citoquímica ultraestructural, usando lectinas (LFA, MAA, SNA) y anticuerpos (anti-sialil-Lewis<sup>a</sup> y anti-sialil-Lewis<sup>x</sup>), empleando partículas de oro coloidal como marcador.

Finalmente, en la quinta experiencia se investigó la influencia de la enzima sialidasa sobre la resistencia de la ZP bovina a la digestión con pronasa, con la intención de averiguar si esta enzima podría estar implicada en el endurecimiento de la ZP tras la fecundación de los ovocitos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio mostraron una inhibición superior al 30% y 70% de la unión espermatozoide-ZP cuando la ZP se trató con los enzimas neuraminidasas de *Clostridium perfringens* y *Salmonella thyphimurium* a concentraciones de 1UI/ml y 10UI/ml, respectivamente. Se detectó asimismo un 71'13% de inhibición en la penetración en experimentos de FIV cuando se usaron ovocitos previamente incubados con el enzima sialidasa (9). La presencia de un inhibidor del enzima sialidasa incrementó el número de espermatozoides unidos a la ZP y el porcentaje de ovocitos polispérmicos tras la FIV (9).

Los resultados del segundo experimento indicaron una inhibición, superior al 60%, del número de espermatozoides unidos a la ZP que fue dosis dependiente con las lectinas LFA y MAA (10). La incubación de las ZP aisladas con la lectina SNA y los anticuerpos anti-sialil-Lewis no afectó a la unión espermatozoide-ZP.

Del experimento 3 se dedujo que tanto sialil-lactosa como fetuina afectan a la unión espermatozoide-ZP, mientras que metil- $\alpha$ -manopiranososa y asialofetuina no presentan ningún efecto inhibidor sobre esta unión.

En el experimento 4 se observó mediante análisis de HPLC la presencia de dos tipos principales de ácido siálico en la ZP bovina: el 5-N-acetil-neuramínico (Neu5Ac) y el 5-N-glycolilneuramínico (Neu5Gc). El Neu5Ac es el componente mayoritario (85%) mientras que el Neu5Gc está presente en menor cantidad (15%) (11). La

utilización de técnicas citoquímicas de lectinas nos indica la presencia de los carbohidratos: Neu5Ac/NeuGc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc (MAA), Neu5Ac/NeuGc $\alpha$ 2,6Gal/GalNAc (SNA) y Neu5Ac/NeuGc-Gal $\beta$ 1,3GalNAc (neuraminidasa-PNA) (11).

Por último, en el experimento 5 se demostró que la resistencia de la ZP bovina a la digestión con pronasa no varía después de la incubación con el enzima sialidasa,

De los resultados obtenidos podemos deducir que la interacción espermatozoide-ZP es un proceso dependiente de carbohidratos, mediado por el ácido siálico con unión  $\alpha$ 2,3 a N-acetil-lactosamina contenida en las glicoproteínas de la ZP de ovocitos de vaca. Además, el efecto observado al emplear el inhibidor de sialidasa nos sugiere la presencia de este enzima en los gránulos corticales de los ovocitos bovinos y su participación en el mecanismo de bloqueo de la polispermia. Sin embargo, la eliminación de los residuos de ácido siálico de la ZP bovina mediante el enzima sialidasa no parece ser el mecanismo responsable del endurecimiento de la ZP.

## REFERENCIAS

1. Wassarman, P.M. (1988). Zona pellucida glycoproteins. *Ann Rev Biochem*, 57: 415-442.
2. Benoff, S. (1997). Carbohydrates and fertilization: an overview. *Mol Hum Reprod*, 3:599-637.
3. Nakano, M., N. Yonezawa (2001). Localization of sperm-ligand carbohydrate chains in pig zona pellucida glycoproteins. *Cells Tissues Organs*, 168:65-75.
4. Lefèvre, L., Conner, S.J., Salpekar, A., Olufowobi, O., Ashton, P., Pavlovic, B., Lenton, W., Afnan, M., Brewis I.A., Monk, M., Hughes, D.C., Barratt, C.L. (2004) Four zona pellucida glycoproteins are expressed in the human. *Hum Reprod*, 19:1580-6.
5. Talbot P., BD. Shur, GD Myles (2003). Cell adhesion and fertilization: steps in oocyte transport, sperm-zona pellucida interactions, and sperm-egg fusion. *Biol Reprod*, 68:1-9.
6. Katsumata, T., S. Noguchi, N. Yonezawa, M. Tanokura, M. Nakano (1996). Structural characterization of the N-linked carbohydrate chains of the zona pellucida glycoproteins from bovine ovarian and fertilized eggs. *Eur J Biochem*, 240(2):448-53.
7. Wassarman, P.M. (1987). Early events in mammalian fertilization. *Ann. Rev Cell Biol*, 3: 109-142.
8. Yanagimachi, R. (1994). Mammalian fertilization. En "Physiology of reproduction", Vol 1 (Eds. Knobil & Neil J), pags. 189-317.
9. Velásquez, J.G., Barajas, P., Marcos, J., Ballesta, J., Avilés, M., Coy P. (2005). Evidences for the presence of sialidase enzyme in the bovine oocyte. Its role in the block to polyspermy. *Reprod Dom Anim* (en prensa).
10. Velásquez, J.G., Marcos, J., Barajas, P., Gardón, J.C., Jiménez-Movilla, M., Ballesta, J., Coy P., Avilés, M. (2004) Involvement of sialic acid in bovine sperm-zona pellucida interaction. *Hum Reprod* 19 (Supp 1): 155.
11. Marcos, J., Velásquez, J.G., Gutiérrez-Gallego, R., Jiménez-Movilla, M., Ballesta, J., Coy, P., Avilés, M. (2005). Characterization of the different sialic acids contained in the bovine zona pellucida. *Reprod Dom Anim* (en prensa).

## UTILIZACIÓN DE OVOCITOS PORCINOS PARA LA PREDICCIÓN DE LA FERTILIDAD DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS.

**S. Cánovas<sup>1</sup>, E. García-Roselló<sup>1</sup>, E. Gómez<sup>2</sup>, E. Sellés<sup>2</sup>, P. Coy<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

<sup>2</sup>Clínica IVI-MURCIA. Navegante Macías del Poyo, 5. La Flota 30007-Murcia

e-mail: [scber@um.es](mailto:scber@um.es) <http://www.um.es/grupo-fisiovet>

### INTRODUCCIÓN

Predecir la capacidad fecundante de los espermatozoides, ha sido el objetivo de numerosos autores. Algunos se plantean si es alcanzable o es una utopía. Desde luego, son numerosas las técnicas que intentan evaluar la funcionalidad de esta célula altamente especializada, aunque ninguna se considera perfecta por no simular en su totalidad el proceso de la fecundación. El test de hámster, descrito por Yanagimachi en 1976 (1), consiste en un bioensayo que mide la capacidad de espermatozoides de diferentes especies, a los que se les induce la reacción acrosómica, para fusionarse y penetrar ovocitos de hámster libres de zona pelúcida (ZP). Se ha usado ampliamente en la especie humana (2) debido a las limitaciones que tiene la utilización de ovocitos humanos en los tests homoespecíficos y se ha adaptado a un número importante de especies: roedores, conejo, porcino, vacuno, equino, caprino, ovino y felinos.

Este test estudia parte de los procesos implicados en la fecundación, como son la capacitación espermática, capacidad de sufrir la reacción acrosómica (RA) tras la inducción con ionóforo de calcio, la unión y fusión a la membrana plasmática del ovocito y la descondensación de la cabeza espermática (3). No obstante, este test obvia dos procesos importantes: la unión y la penetración de la ZP. Esta última fase parece ser una de las barreras más difíciles que el espermatozoide debe atravesar antes de conseguir la penetración del ovocito. La realización del test de hámster implica disponer de animales específicamente para este fin, infraestructuras y personal, para la cría y mantenimiento, lo que ha contribuido a que caiga en desuso en la actualidad. Debido en parte a la relativa facilidad de conseguir ovarios porcinos en matadero, los ovocitos porcinos han sido utilizados previamente tanto en test homólogos (4) como en test heterólogos (5) para intentar predecir capacidad fecundante.

Nuestro propósito fue investigar si es posible usar como material biológico ovocitos procedentes de cerdas sacrificadas en mataderos para realizar un test heterólogo de penetración de espermatozoides humanos que permita predecir su capacidad fecundante. Además estudiamos si los espermatozoides microinyectados en el interior del ovocito porcino maduro tienen capacidad de descondensar y activar el ovocito, debido al interés actual de predecir si una muestra seminal puede fecundar mediante ICSI a pesar de que no sea capaz de hacerlo mediante FIV y la posibilidad de estudiar los eventos post-ICSI que acontecen en el espermatozoide y en el ovocito.

Este proyecto cuenta con la autorización de la Comisión Nacional de Reproducción Asistida y el Comité de Bioética de la Universidad de Murcia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los ovarios de cerda se obtuvieron en matadero a partir de cerdas prepúberes y se transportaron al laboratorio a 39°C en solución salina. En el laboratorio se obtuvieron los ovocitos mediante rayado de los folículos entre 3-6mm y se seleccionaron bajo lupa por el número de capas de células del *cúmulus* y la homogeneidad del citoplasma, para transferirlos al medio de maduración NCSU-37 durante 44 horas (6).

Experiencia I. Al finalizar el proceso de maduración los ovocitos porcinos se desnudaron y se procedió a la digestión de la ZP con pronasa (7).

Previamente a la incubación con los ovocitos, los espermatozoides humanos fueron capacitados mediante un gradiente de densidad (Pure Sperm) y a continuación la muestra se dividió en dos partes. Una fracción se incubó durante 3 horas con 5µM de ionóforo de calcio A23187 en medio IVF y la otra sin ionóforo. Tras la incubación los espermatozoides fueron centrifugados y lavados dos veces en el medio TALP (8). Los ovocitos libres de ZP y los espermatozoides se coincubaron en medio TALP o medio IVF (Medicult) durante 18-20 horas a 38.5°C y 5% CO<sub>2</sub> usando diferentes concentraciones de espermatozoides (1x 10<sup>5</sup>, 1x10<sup>6</sup>, 5x10<sup>6</sup> and 10x10<sup>6</sup> espermatozoides/ml).

Antes de la coincubación, una alícuota de la muestra seminal fue teñida con PSA-FITC y se determinó el estado del acrosoma (9). Finalmente, los ovocitos se lavaron en DPBS y se fijaron en 0.5% glutaraldehído y se tiñeron con Bisbenzimidaz (Hoechst- 33342) para valorar unión de espermatozoides, penetración, descondensación de espermatozoides y el estado nuclear del ovocito.

Experiencia II. Los ovocitos porcinos maduros fueron desnudados en DPBS con 10% suero fetal bovino. Se prepararon las placas con las microgotas donde se colocaron los ovocitos y se procedió a la microinyección. Cinco muestras seminales, capacitadas mediante un gradiente de densidad (Pure-Sperm) fueron utilizadas. Diez ovocitos maduros por muestra seminal fueron inyectados con un solo espermatozoide. Tras la inyección los ovocitos fueron lavados dos veces en DPBS y transferidos a medio TALP durante 18-20 horas. Tras ese tiempo, se fijaron y tiñeron del mismo modo antes descrito.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Experiencia I. Los ovocitos porcinos libres de zona pelúcida incubados con los espermatozoides humanos en medio TALP y medio IVF no fueron penetrados en ningún caso bajo las condiciones experimentales descritas y el núcleo del ovocito permaneció en todos los casos en estadio de Metafase II. Las muestras seminales incubadas con ionóforo de calcio durante 3 horas mostraron más del 70% de los espermatozoides con acrosoma reaccionado, mientras que las muestras incubadas sin ionóforo mostraron porcentajes de reacción acrosómica entre el 5 y 20%, lo que

demuestra que la inducción con el ionóforo de calcio produjo la exocitosis en un alto porcentaje de espermatozoides. Sin embargo en ninguna de las dos situaciones el espermatozoide fue capaz de penetrar el ovocito, a pesar de haber eliminado la ZP considerada hasta ahora como la única barrera que intervenía en la especificidad de especie. A pesar de ello, existen referencias que demuestran también la incapacidad de los espermatozoides humanos para penetrar ovocitos sin ZP de ratón y rata (10,11). Esto nos hace plantearnos que deben existir a nivel de la membrana plasmática mecanismos de reconocimiento del espermatozoide con cierta especificidad. Si bien el ovocito de hámster parece ser muy promiscuo y puede ser penetrado por espermatozoides de numerosos "filum" evolutivamente muy distantes, en otros casos como el humano Berford (12) planteó que evolutivamente habían sufrido cambios restrictivos en la superficie del espermatozoide que lo habían limitado y hecho más específico a la hora de unirse a las membranas.

A la vista de los resultados el modelo de interacción espermatozoide humano-ovocito porcino sin ZP se muestra de interés para el estudio del bloqueo a nivel de membrana plasmática.

Experiencia II. Las cinco muestras seminales dieron como resultado tras la microinyección del espermatozoide humano en el ovocito porcino maduro la formación de pronúcleo masculino en porcentajes del 63, 80, 77, 93 y 87. También observamos activación de los ovocitos y formación de pronúcleo femenino en los siguientes porcentajes respectivamente 45, 70, 77, 85 y 75 %.

Otros autores (13) mediante ICSI heteróloga con ovocitos bovinos obtienen activación del ovocito del 83% y 60% de formación del aster espermático.

Este ensayo se demuestra válido para el estudio de los eventos post-ICSI, desintegración del acrosoma, descondensación del núcleo, formación de microtúbulos y migración del pronúcleo que son bastante desconocidos en el caso humano por las limitaciones del uso de ovocitos homólogos. También se presenta como un herramienta útil para el entrenamiento de nuevos técnicos que realicen ICSI o pruebas de testaje de nuevos medios.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ. (1976) Biol Reprod. Nov;15(4):471-6.
2. Rogers BJ. (1985) Fertil Steril. 1985 Jun;43(6):821-40.
3. Yanagimachi, R. (1984) Tokai J Exp Clin Med. Jun;9(2):81
4. Gadea J, Matás C, Lucas X. Anim Reprod Sci. 1998 Dec 31;54(2):95-108.
5. Gardon JC. Rev Iberoam Fertil. 18: 56-57. 2001
6. Funahashi H, Day BN. J Reprod Fertil. 1993 May;98(1):179-85.
7. Coy P, Gadea J, Romar R, Matás C, E García. Reproduction. 2002 Aug;124(2):279-88.
8. Rath D, Long CR, Dobrinsky JR, Welch GR, Schreier LL, Johnson LA. (1999) J Anim Sci. Dec;77(12):3346-52.
9. Liu DY, Baker HW. (1998) Hum Reprod. Apr;13(4):905-10.
10. Quinn P. J Exp Zool. (1979) Dec;210(3):497-505.
11. Pavlok A. (1980) Folia Biol (Praha);26(3):188-93
12. Bedford JM. (1977) Anat Rec. Aug;188(4):477-87
13. Terada Y, Nakamura S, Morita J, Tachibana M, Morito Y, Ito K, Murakami T, Yaegashi N, Okamura K. (2004) Am J Reprod Immunol. Apr;51(4):290-3

**Trabajo financiado por la Fundación Séneca PB/15/FS/02.**

## PRODUCCIÓN IN VITRO DE EMBRIONES CAPRINOS MEDIANTE LA TÉCNICA ICSI (INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES).

Ana Raquel Jiménez-Macedo, Begoña Anguita, Dolors Izquierdo,  
María Teresa Paramio

Dpto. Ciència Animal i dels aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de  
Barcelona. Bellaterra (Barcelona)

### INTRODUCCIÓN

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) es utilizada como una técnica alternativa a la FIV. Desde que en 1997, Uehara y Yanagimachi obtuvieran nacimientos de hámster mediante ICSI, se han descrito nacimientos a partir de ICSI en otras especies domésticas (vacas: Keefer y col, 1990, cerdo: Kolbe y Holtz, 1999, oveja: Gómez y col, 1998 y caballo: Alm y col, 2001). Para la producción de un embrión mediante ICSI es necesario que, una vez inyectado el espermatozoide, el ovocito se active iniciando la mitosis que dará lugar al embrión. En ciertas especies, como en la cerda y en el hámster, la propia estimulación mecánica de la inyección es suficiente por sí misma para activar al ovocito (Kim y col, 1999). En cambio, en especies como la vaca se necesita de la ayuda de una activación química del ovocito para iniciar la división embrionaria (Keefer y col, 1990). En el caprino, se han obtenido blastocistos mediante ICSI utilizando semen congelado y sin activación química (Keskinetepe y col, 1997). Wang y col (2003), consiguieron el nacimiento de cabritos utilizando para la ICSI un sistema de pipetas *piezo-drill* (pulsos repetidos sobre el ovocito). En ambos grupos los ovocitos provenían de cabras adultas.

Debido al escaso porcentaje de ovocitos fecundados mediante FIV, la ICSI puede mejorar los resultados de producción in vitro de embriones al permitir la fecundación de todos los ovocitos.

El objetivo de este estudio es comparar los resultados de producción de embriones utilizando ovocitos de cabras prepúberes mediante 3 formas distintas de fecundación: a) sistema convencional de FIV, b) Utilización de ICSI más estimulación química de los ovocitos mediante ionomicina y DMAP, siguiendo el protocolo en vacuno de Onger y col (2001) y c) utilización de ICSI sin activación química pero realizando una capacitación del espermatozoide inyectado más fuerte mediante la combinación de heparina e ionomicina.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron ovarios de cabras prepúberes (1 a 2 meses) de un matadero. Los ovocitos se obtuvieron por *slicing* y se seleccionaron según el aspecto de las células del cúmulus (COC) y la homogeneidad del citoplasma. Los ovocitos maduraron en medio TMC199 más hormonas, suero y cistamina (Rodríguez y col, 2003) y se incubaron en un 5% CO<sub>2</sub> en aire a 38.5° C durante 27 horas. La fecundación se realizó con semen fresco, seleccionando los espermatozoides más móviles por *swim-up* durante 1 hora. El sobrenadante se centrifugó a 500 rpm durante 8 minutos y el pellet se diluyó 1:1 en mDM (Younis y col, 1991) y la solución de capacitación.

Una vez madurados, los ovocitos se separaron en tres grupos:

- a) Grupo FIV: los ovocitos se inseminaron con espermatozoides capacitados con una solución de 50 µg/ml de heparina en mDM durante 45 minutos a una concentración de  $4 \cdot 10^6$  spz/ml .

- b) Grupo ICSI + activación: previamente a la ICSI los espermatozoides se capacitaron en una solución de 50 µg/ml de heparina en mDM durante 45 minutos. Los ovocitos se desnudaron y fueron colocados individualmente en gotas de 5µl de medio TALP. Los espermatozoides, una vez capacitados se colocaron en gotas de 5 µl de PBS con un 10% de PVP y se les rompió la cola por golpe con la pipeta de inyección y se absorbieron por la cola. Se colocó el ovocito con el corpúsculo polar a las 12 o a las 6 sujeto con la pipeta de mantenimiento y se inyectó un espermatozoide por las 3. Posteriormente se incubaron los ovocitos en 5 µM de ionomicina en TCM199 con 10 % FBS durante 5 minutos y después en 2 mM 6-DMAP en TCM199 con 10% FBS durante 4 h (Ongeri y col, 2001).
- c) Grupo ICSI: previamente a la ICSI los espermatozoides se capacitaron con 200nM de ionomicina y 10 µg/ml de heparina durante 15 minutos (Wang y col, 2002). Los ovocitos fueron desnudados y fecundados por ICSI.

Todos los ovocitos se colocaron después en medio de FIV (TALP: Parrish y col, 1986) y se incubaron después durante 24 horas. Los supuestos embriones se cultivaron durante 192 horas en medio SOF con suero fetal bovino al 1% en un 5% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub> y 90% N<sub>2</sub> a 38.5°C.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los resultados del estadio nuclear de los ovocitos a las 17 horas de cultivo en medio de FIV.

Los porcentajes obtenidos de 2PN son significativamente mayores cuando se fecundaron por ICSI respecto a los FIV (40 y 37.2 vs 25.2% respectivamente). Cuando en la ICSI hubo activación, el porcentaje de fecundación anormal (1PN) fue significativamente mayor que en la FIV (14.3 vs. 0.4% respectivamente). Éstos son resultados que cabrían esperar, ya que con la técnica de ICSI, al inyectar directamente el espermatozoide en el citoplasma del ovocito, se saltan todos los pasos y reacciones de penetración del espermatozoide que podrían comprometer la fecundación en la FIV. Además, para realizar la ICSI se seleccionan únicamente los ovocitos con el primer corpúsculo polar, es decir, los que han madurado correctamente, aumentando la probabilidad de ser fecundados.

Tabla 1. Análisis del estadio nuclear de ovocitos de cabra prepúber a las 17 horas post-inseminación/ inyección/ activación.

	<i>N</i>	2PN	1PN	3PN
<i>FIV</i>	270	68 (25.2)b	1 (0.4)b	11 (4.1)
<i>ICSI+I+DMAP</i>	70	28 (40.0)a	10 (14.3)a	2 (2.8)
<i>ICSI</i>	94	35 (37.2)a	6 (6.4)ab	3 (3.2)

a,b Valores con diferentes letras tienen resultados estadísticamente significativos (P < 0.05).

En la tabla 2 se muestran los resultados de desarrollo de los embriones para los tres tratamientos estudiados.

Se han obtenido unos porcentajes de división a las 48 hpi mayores en los dos grupos fecundados por ICSI respecto a los de FIV (ICSI+I+DMAP: 70.1, ICSI: 54.6

vs. FIV: 27.3%). Nuestros resultados en los dos grupos de ICSI y de FIV son similares a los que obtiene Keskinetepe y col (1997) con cabras adultas.

Al contrario que con cabras adultas (Keskinetepe y col, 1997), no se han obtenido resultados de desarrollo embrionario avanzado para el grupo de ICSI+I+DMAP. En cambio, el grupo de ICSI con espermatozoides capacitados con ionomicina, tiene un porcentaje de mórulas y blastocistos significativamente mayor que los de FIV (13.4 vs. 5.2%, respectivamente). Estos resultados de división concuerdan con los que se obtuvieron de fecundación a las 17hpi. En cuanto al grupo ICSI+I+DMAP, se observa un porcentaje de división muy alto (70.1%) pero sin llegar a obtener mórulas. Este resultado podría explicarse porque parte de los ovocitos podrían estar activados partenogénicamente.

Tabla 2. Análisis del desarrollo embrionario de ovocitos de cabra prepúber a las 192 horas de cultivo en medio de SOF.

	<i>N</i>	<i>Divididos</i> <i>48h</i>	<i>2-7 Cels</i>	<i>8-16 Cels</i>	<i>Morula+</i> <i>Blastocisto</i>
<i>FIV</i>	271	74 (27.3)c	38 (14.0)c	22 (8.1)b	14 (5.2)b
<i>ICSI+I+DMAP</i>	144	101 (70.1)a	77 (53.5)a	24 (16.7)a	
<i>ICSI</i>	97	53 (54.6)b	23 (23.7)b	17 (17.5)a	13 (13.4)a

a,b,c Valores con diferentes letras tienen resultados estadísticamente significativos ( $P < 0.05$ ).

Según los resultados obtenidos en los tres experimentos realizados en este trabajo, podemos concluir que el protocolo de ICSI más idóneo para ovocitos de cabra prepúber es el realizado con espermatozoides capacitados con la combinación de ionomicina y heparina sin activación química adicional posterior a la ICSI.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alm H, et al. 2001. *Theriogenology* 56: 817-829.
2. Gómez MC, et al. 1998. *Theriogenology* 49: 1143-1154.
3. Keefer CL, et al. 1990. *Mol Reprod Dev* 25: 265-276.
4. Keskinetepe L, et al. 1997. *Zygote* 5, 261-265.
5. Kim N, et al. 1999. *Mol Repr Dev* 53:84-91.
6. Kolbe T, y Holtz. 1999. *Theriogenology* 52: 671-682.
7. Ongerí EM, et al. 2001. *Theriogenology* 55: 1933-1945.
8. Parrish JJ, et al. 1986. *Theriogenology* 25: 591-600.
9. Rodríguez E, et al. 2003. *Reprod Nutr Dev* 43:179-187
10. Uehara T, et al. 1977. *Biol Reprod* 16: 315-321
11. Wang B, et al. 2002. *Mol Repr Dev*. 63: 437-443.
12. Wang B, et al 2003. *Zygote*. 2003 Aug;11(3):219-27
13. Younis AI, et al. 1991. *Biol Reprod* 44: 1177-1182.



## PRODUCCIÓN *IN VITRO* DE EMBRIONES PORCINOS TRANSGÉNICOS

<sup>1</sup>F García-Vázquez, <sup>1</sup>E García-Roselló, <sup>1</sup>D Gumbao, <sup>2</sup>A Gutiérrez-Adán y  
<sup>1</sup>J Gadea

<sup>1</sup>Dept. Fisiología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

<sup>2</sup>Dept. Reproducción Animal, INIA, Madrid. E-mail: [fagarcia@um.es](mailto:fagarcia@um.es).

<http://www.um.es/grupo-fisiovet>

### INTRODUCCIÓN

La producción de embriones transgénicos tiene un gran interés debido a sus posibles aplicaciones en biomedicina (modelos experimentales, modelos de enfermedades humanas) y agricultura (mejor y mayor producción, resistencia a enfermedades, etc.) como recientemente ha sido revisado por Wheeler et al (2003). Una especial importancia puede tener la producción de cerdos transgénicos destinados a la posible donación de órganos para humanos (xenotransplantes).

Hasta el momento, la microinyección pronuclear ha sido la técnica más utilizada para la generación de animales transgénicos (Gordon *et al.*, 1981). Esta metodología es eficiente en ratón pero no así en otras especies donde presenta unos bajos rendimientos junto con unos costes muy elevados. Por tanto, se han desarrollado otros métodos alternativos como vectores retrovirales, células madre embrionarias, biolística, células germinales primordiales, etc. Sin embargo, su eficiencia hasta el momento es baja. Una posible alternativa viable a dichas técnicas es la de aprovechar la capacidad que tienen los espermatozoides de captar y transferir ADN exógeno (Brackett *et al.*, 1971). Esta técnica denominada "Transgénesis mediada por espermatozoides" (SMGT) presenta varias ventajas como son la "relativa" sencillez de la técnica, bajo coste y mayor eficiencia (Lavitrano *et al.*, 1989; Perry *et al.*, 1999; Shim *et al.*, 2000).

El objetivo de este trabajo es revisar y mostrar de forma conjunta las experiencias desarrolladas por nuestro equipo en este campo. En primer lugar se evaluó el efecto del plasma seminal sobre la unión del ADN al espermatozoide, en segundo lugar se estudio la cinética de unión del espermatozoide al ADN exógeno mediante citometría de flujo, y finalmente la producción de embriones porcinos transgénicos mediante la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

### MATERIAL Y MÉTODOS

*Experiencia 1:* Evaluación de la unión espermatozoide-ADN y efecto del plasma seminal.

Se estudió el efecto de la presencia del plasma seminal (0, 10 y 50% de plasma seminal) sobre el porcentaje de espermatozoides que se unieron a un ADN exógeno después de un periodo de incubación de 2 y 24h. Para ello se utilizó un ADN marcado con rodamina (pGeneGrip-Rhodamine/ GFP Gene Therapy System) que permite detectar la unión espermatozoide-ADN mediante la observación con microscopio de fluorescencia. El semen procedente de 6 machos de fertilidad probada fue procesado de acuerdo al protocolo de Lavitrano *et al.* (2003) en medio

SFM y unas condiciones de incubación de  $6 \times 10^6$  espermatozoides y 250 ng de ADN a temperatura ambiente.

*Experiencia 2:* Uso de citometría de flujo para evaluar la cinética de unión espermatozoide-ADN.

La finalidad de este estudio fue evaluar la capacidad de unión de los espermatozoides al ADN (previamente marcado con fluoresceína) a lo largo del tiempo, usando el citómetro de flujo. Semen de 5 verracos de fertilidad probada fue procesado en medio SFM.  $1 \times 10^8$  espermatozoides/ml fueron coincubados con un plásmido lineal (5  $\mu$ g ADN/ml), marcado con fluoresceína-12-dUTP (random primer DNA labeling, Roche, Germany) e incubado a 16°C. La tasa de unión del ADN fue evaluada mediante citometría de flujo a los 0, 15, 30, 60, 90, 120 minutos de incubación.

*Experiencia 3:* Producción de embriones porcinos transgénicos mediante el uso de la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).

En esta última experiencia se evaluó la eficiencia de la técnica para la producción de embriones transgénicos mediante ICSI. Para ello se utilizaron espermatozoides, libres de plasma seminal, como vectores para transferir ADN exógeno (que expresa la proteína GFP: Green Fluorescent Protein; plasmido pEGFP-N1, Clontech Laboratorios, Inc., Palo Alto, CA, USA) en ovocitos madurados in vitro. Los ovocitos fueron madurados en medio NCSU-37 durante 44h a 38.5°C, 5% CO<sub>2</sub> en aire (Funahashi y Day, 1993). El procesamiento del semen se realizó del mismo modo que en la *experiencia 2*. La incubación ADN-espermatozoides se realizó durante 30 min a 16°C; 5 min antes de la ICSI fueron precalentados a 37°C. Los ovocitos denudados fueron lavados 2 veces en medio DPBS suplementado con 10% de suero fetal de ternera. Una vez inyectados los ovocitos fueron lavados y cultivados en medio TALP durante 18h. Finalmente el desarrollo embrionario se realizó en medio NCSU-23. Los embriones fueron evaluados a las 48h tras la inyección para conocer la tasa de división (cleavage), y a las 144h para el desarrollo embrionario (blastocistos). La expresión de la proteína verde fluorescente en los embriones fue evaluada mediante observación bajo microscopio de fluorescencia invertido. Posteriormente los embriones fueron fijados en etanol absoluto 24h y teñidos con Hoescht 33342 para evaluar así el número de células en el embrión.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La presencia de plasma seminal en el proceso de coincubación inhibió la unión del ADN al espermatozoide. Los espermatozoides con menor porcentaje de plasma (0 y 10%) se unieron en mayor medida al ADN ( $18.10 \pm 2.80\%$  y  $14.59 \pm 3.63$ , respectivamente), que aquellos en los que el plasma seminal estaba presente en un 50% ( $5.65 \pm 0.80$ ;  $p=0.008$ ). Se detectó un marcado efecto del macho sobre las tasas de unión ( $p<0.001$ ). Estos resultados preliminares confirman un efecto inhibitorio de los componentes del plasma seminal sobre la unión entre ADN-espermatozoide (Zani *et al.* 1995), por lo que para las experiencias siguientes, dicho plasma seminal fue eliminado tras la recolección del semen.

Cuando se utilizó la citometría de flujo para evaluar el grado de unión a lo largo del tiempo de coincubación se observó que la mayor parte del ADN se incorpora al espermatozoide en los primeros 15 min de incubación ( $15.69 \pm 0.93$ ) incrementándose significativamente hasta los 30 min ( $17.89 \pm 0.63$ ) para continuar con un incremento no significativo a los 60 min (17.69), 90 min (18.02) y 120 min (19.49). Igualmente se detectó un marcado efecto del macho sobre las tasas de unión ( $p < 0.001$ ). La tasa de unión detectada por citometría fue más baja que la obtenida por microscopía probablemente debido a que solo son contabilizadas las células con una fuerte unión al ADN exógeno. Por lo tanto los resultados sugieren que el citómetro de flujo es una valiosa herramienta para evaluar la capacidad de unión específica, además de ser un método objetivo, exacto y fácilmente reproducible si lo comparamos con el método tradicional de microscopía.

La utilización de la ICSI con espermatozoides incubados con ADN permitió obtener una tasa de división embrionaria del 44% (64/144 ovocitos), 16 de los cuales (25%) se encontraban en estadio de blastocisto con un número medio de células de 22.7. Un total de 14 (21.8%) embriones expresaron la proteína verde fluorescente (GFP) en estadios variables desde 2 células hasta estadio de blastocisto.

Estos resultados preliminares demuestran que la "Transgénesis mediada por espermatozoides" (SMGT) podría ser una herramienta adecuada para la obtención de cerdos transgénicos, siendo una alternativa a los métodos clásicos utilizados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Brackett BG, Boranska W, Sawicki W, Koprowski H (1971). Uptake of heterologous genome by mammalian spermatozoa and its transfer to ova through fertilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 68:353-357.
- Funahashi H, Day BN. Effects of follicular fluid at fertilization in vitro on sperm penetration in pig oocytes. *J Reprod Fert*, 1993; 99:97-103.
- Gordon JW, Ruddle FH. Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei. *Science*. 1981 Dec 11; 214 (4526): 1244-6.
- Lavitrano M, Camanioni A, Fazio VM, Dolci S, Farace MG, Spadafora C. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice. *Cell* 1989 Jun 2; 57(5): 717-23.
- Lavitrano M, Forni M, Bacci ML, Di Stefano C, Varzi V, Wang H, Seren E. Sperm mediated gene transfer in pig: Selection of donor boars and optimization of DNA uptake. *Mol Reprod Dev*. 2003 Mar;64 (3):284-91.
- Perry AC, Wakayama T, Kishikawa H, Kasai T, Okabe M, Toyoda Y, Yanagimachi R. Mammalian transgenesis by intracytoplasmic sperm injection. *Science*. 1999 May 14; 284 (5417): 1180-3.
- Shim SW et al. (2000). Transgenesis of porcine embryos using intracytoplasmic sperm injection. *Theriogenology* vol.1, p. 521.
- Wheeler MB, Walters EM, Clark SG. Transgenic animals in biomedicine and agriculture: outlook for the future. *Anim Reprod Sci*. 2003 Dec 15;79(3-4):265-89.
- Zani M, Lavitrano M, French D, Lulli V, Maione B, Sperandio S, Spadafora C. The mechanism of binding of exogenous DNA to sperm cells: factors controlling the DNA uptake. *Exp Cell Res*. 1995 Mar;217(1):57-64.

## EFICIENCIA DE LA RECUPERACIÓN *IN VIVO* DE EMBRIONES DE CONEJO POR LAPAROSCOPIA.

Lavara R.<sup>a</sup>, Viudes De Castro M.P.<sup>b</sup>, Mehaisen G.M.K.<sup>a</sup>, Vicente J.S.<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción. Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Cno de Vera 14. C.P. 46071-Valencia. España.

<sup>b</sup>CITA, IVIA Moncada, España. E-mail: [rlavara@dca.upv.es](mailto:rlavara@dca.upv.es)

### INTRODUCCIÓN

Los programas de crioconservación de embriones de conejo desarrollados en la década de los 90 en el INRA y la UPV han permitido tanto constituir o reestablecer poblaciones control para poder evaluar la respuesta a la selección (García y Baselga 2002) como poder llevar a cabo la difusión de material genético a otros países sin riesgos de transmisión de enfermedades (García et al. 2000) o la preservación de recursos genéticos animales (Bolet et al. 2000).

La recuperación de embriones en el marco de un programa de crioconservación pretende no sólo obtener un elevado número de embriones, sino además que éstos provengan del mayor número de orígenes macho y hembra, con el fin de obtener una adecuada representación de la población original. La recuperación de embriones de conejo, en general, se realiza tras el sacrificio de una hembra donante (post-mortem) que puede haber sido inducida a superovular con eCG o FSH. Si bien estos tratamientos consiguen aumentar el número total de embriones recuperados, presentan desventajas, así, el 30-40% de las donantes muestran fallos de recuperación (Renard et al. 1992; García y Vicente, 1990), baja calidad y viabilidad de los embriones (Illera et al. 1990, Mehaisen et al. 2003), y cuando se aplica sobre estirpes o razas no habituales (Turingia, Chinchilla o Leonado de Borgoña) los fallos de respuesta ovárica, fecundación o desarrollo embrionario son aún más elevados.

Una técnica que mejora el número de embriones recuperados por hembra es la recuperación *in vivo* de embriones, bien por laparotomía (Forcada y López 2000) o por laparoscopia (Besenfelder et al. 1998), ya que permiten recuperar varias dotaciones de embriones de una misma hembra.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficiencia de la técnica de recuperación de embriones *in vivo* por laparoscopia en tres líneas seleccionadas de conejo, y su posible repercusión en el futuro reproductivo de la hembra.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Como donantes de embriones se utilizaron 70 hembras multíparas lactantes con al menos dos partos. Las conejas pertenecían a las líneas A (n=16) y V (n=22) seleccionadas por tamaño de camada al destete (Estany et al. 1989) y a la línea R (n=32), seleccionada por velocidad de crecimiento (Estany et al. 1992).

Las hembras se cubrieron con machos adultos de la misma línea y generación con los que no estuviesen emparentados.

Los embriones fueron recuperados mediante laparoscopia 76-78 horas tras la monta o inseminación. Una vez anestesiada la hembra y distendido el abdomen, se prepara el campo de intervención que a diferencia de la laparotomía, se restringe a tres pequeñas zonas localizadas, dos caudales cerca de la región inguinal (una para cada oviducto) por la que se introduce la sonda de perfusión, y dos centrales a 6-8 cm respecto al extremo del esternón. En estas zonas se practican las punciones con los trócares y vainas correspondientes al endoscopio y al fórceps atraumático. Una vez realizadas las punciones se introduce el catéter de perfusión por la abertura

infundibular y se lava el oviducto con 5 ml de medio de perfusión (Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS) con antibióticos (Penivet 1, Difarma)) empujando el contenido del mismo hacia el cuerno uterino. Tras la perfusión de los oviductos, se perfunde cada uno de los cuernos uterinos con 50 ml de medio y su contenido es recogido del fondo de la vagina con un catéter de Foley conectado a una bomba de aspiración.

Para valorar la incidencia de la recuperación de embriones *in vivo* sobre el futuro reproductivo de la hembra donante tras la recuperación, se controlaron un total de 93 partos de las 70 hembras donantes, registrándose los datos de: índice intentos-servicios (%), número de nacidos totales (NT) y número de nacidos vivos (NV). Se estableció un grupo control de hembras multíparas lactantes de la misma línea y generación, controlándose un total de 238 partos de 97 hembras control (47, 40 y 20 hembras de las líneas A, V y R, respectivamente) de los que se tomaron los mismos datos que para el grupo recuperado *in vivo*.

En el momento de la recuperación se observó la tasa de ovulación (TO), tras la perfusión de oviductos y de útero se procedió al recuento de la tasa de recuperación global [formada por el conjunto de oocitos, embriones normales y anormales (TR)], embriones totales recuperados (ER) y embriones normales recuperados (EN). Los embriones recuperados fueron catalogados basándose en criterios morfológicos, considerándose embriones normales aquellos embriones en estadio de mórula compactada (MOR) o blastocisto temprano (BLAS) que presentaban una masa de células homogénea y ninguna anomalía en la cubierta de mucina y zona pelúcida.

En las hembras donantes se analizó el efecto de la línea sobre la TO, éxito de la recuperación (TR/TO), tasa de normalidad embrionaria (EN/TR), embriones normales (EN), porcentaje de mórulas (MOR/EN) y porcentaje de blastocistos (BLAS/EN), mediante un GLM (General Línear Model). Se utilizó el mismo modelo estadístico para analizar el efecto del tratamiento (recuperación *in vivo*, control) y la línea, así como su interacción, sobre el índice de intentos-servicios (%), nacidos vivos (NV) y nacidos totales (NT).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron un total de 70 recuperaciones *in vivo*, de las cuales 16 se realizaron sobre hembras A, 22 sobre hembras V y 32 sobre hembras R. Los resultados de la recuperación se muestran en la tabla de resultados (Tabla 1).

**TABLA 1: Recuperaciones *in vivo* de embriones en las tres líneas de la UPV.**

	TO	TR	TR/TO (%)	EN	EN/TR (%)	MOR/EN (%)	BLAS/EN (%)
A	10.5±0.59 <sup>b</sup> (16)	8,2±0.98 (16)	77.4%±7.9 (16)	7.3±1.15 (16)	87%±9.8 (16)	71%±8.8 <sup>ab</sup> (15)	22%±7.1 <sup>b</sup> (15)
V	11.5±0.50 <sup>b</sup> (22)	7.3±0.84 (22)	67%±5.6 (22)	6.5±1.0 (20)	75%±8.7 (20)	49%±8.6 <sup>c</sup> (20)	46%±6.9 <sup>a</sup> (20)
R	12.4±0.42 <sup>a</sup> (32)	8.3±0.70 (32)	64%±6.8 (32)	6.1±0.83 (31)	66%±7.0 (31)	89%±7.2 <sup>a</sup> (31)	2%±5.7 <sup>c</sup> (31)
TOTAL	11.5±0.29 (70)	7.9±0.49 (70)	69%±3.9 (70)	6.6±0.58 (67)	76%±4.9 (67)	70%±4.7 (66)	23%±3.8 (66)

Columnas con distinto superíndice muestran diferencias significativas (P<0.05)

TO: Tasa de ovulación, TR: Tasa de recuperación global, TR/TO: porcentaje de recuperación global, EN: Número de embriones normales; EN/TR (%): porcentaje de normalidad; MOR/EN (%): porcentaje de mórulas; BLAS/EN (%): porcentaje de blastocistos.

Se observaron diferencias significativas para la TO, entre las tres líneas, la línea R, debido a su mayor peso vivo (línea seleccionada por velocidad de crecimiento e índice de conversión) tiene una TO mayor (12,4 frente 10,5 y 11,5 para las líneas R, A y V, respectivamente  $P<0.05$ ). También se observaron diferencias en el desarrollo embrionario para las distintas líneas [MOR/EN (%), BLAST/EN(%)], mostrando la línea V, un desarrollo embrionario más temprano que las líneas A y R (46% BLAST/EN frente a 22% y 2% para las líneas V, A y R respectivamente,  $P<0.05$ ). Si comparamos los resultados obtenidos con la recuperación de embriones *in vivo*, con los resultados obtenidos con la recuperación post-mortem de embriones para estas mismas líneas (Lavara et al. 2001), se observa que la tasa de recuperación global es semejante (77% frente a 77.4%; 68% frente a 64%; para recuperación post-mortem e *in vivo* en las líneas A y R).

**Tabla 2. Incidencia de la recuperación in vivo de embriones sobre las características reproductivas futuras de la hembra.**

	I-S (%)	NT	NV
CONTROL	53%±7.5 (238)	8.84±0.25 (238)	8.02±0.27 (238)
IN VIVO	52%±10.5 (91)	8.28±0.35 (91)	7.58±0.38 (91)
TOTAL	53%±6.5 (329)	8.56±0.21 (329)	7.79±0.24 (329)

I-S(%): índice intentos-servicios. NT: nacidos totales por parto; NV: nacidos vivos por parto.

No se observaron diferencias significativas entre el índice intentos-servicios (%), NT y NV, entre los grupos control e *in vivo* (Tabla 2). Tampoco resultó significativa la interacción línea\*tratamiento.

De los resultados obtenidos se concluye que la metodología de recuperación de embriones *in vivo* descrita puede ser utilizada para obtener embriones de hembras que se encuentren en producción, sin necesidad de ser sacrificadas y sin afectarlas reproductivamente, lo que implicaría poder obtener un mayor número de embriones (tras varias intervenciones) de un gran número de hembras teniendo de esta forma asegurada la variabilidad de la población una vez se produzca su reconstitución futura.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto de C.I.C.Y.T. AGL2000-0595-C03-01

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BESENFELDER U., STROUHAL C., BREM G. 1998. J. Vet. Med. A. 45, 577-579.  
 BOLET G. et al. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Vol. A: 231-316.  
 ESTANY J., BASELGA M., BLASCO A., CAMACHO J. 1989. Livest. Prod. Sci. 21: 67-75.  
 ESTANY J., CAMACHO J., BASELGA M., BLASCO A. 1992. Génét. Sél. Evol. 24:527-537.  
 FORCADA F., LOPEZ M. 2000. Anim. Reprod. Sci. 64: 121-126  
 GARCIA M.L., BASELGA M. 2002. Livest. Prod. Sci. (74) 45-53  
 GARCIA M.L.; BLUMETTO O; CARPA G; VICENTE J.S; BASELGA M. 2000. 7<sup>th</sup> World Rabbit Congress. Vol (A) 139-142.  
 GARCÍA F., VICENTE J.S., 1990. J. Appl. Rabbit Res., 13 (2) :71-73.  
 ILLERA M.J., RODRIGUEZ DE SADIA C., MUÑOZ I., ILLERA M. 1990. Theriogenology 33, 253 (Abstract).  
 LAVARA R., MOCÉ L., MOCÉ E., GARCÍA ML., VICENTE J.S. 2001. III Congreso Ibérico Reproducción Animal. 409-414.  
 MEHAISEN GMK., LAVARA R., VICENTE JS. 2003. X Jornadas producción animal. Vol. 1: 294-296.  
 RENARD J.P., GARNIER V., PARVEX R., 1992. 3èmes Journées de la Recherche Cunicole, Paris. Communication n° 18.

## **APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE TRANSFERENCIA DIRECTA DE EMBRIONES OVINOS CONSERVADOS MEDIANTE CONGELACIÓN CLÁSICA Y VITRIFICACIÓN**

García-García, R.M. <sup>1\*</sup>, Veiga-López, A. <sup>2</sup>, Fuentes-López, F. <sup>1</sup>, J.C. Peña <sup>1</sup>, Caballero de la Calle, J.R. <sup>1</sup>, González-Bulnes, A. <sup>2</sup>, Cocero, M.J. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dpto. de Ciencia y Tecnología Agroforestal. EUITA. Universidad de Castilla La-Mancha. C/Ronda Calatrava 7, 13071- Ciudad Real. <sup>2</sup> Dpto de Reproducción Animal. INIA. Avda Puerta de Hierro s/n, 28040- Madrid.

### **INTRODUCCIÓN**

La transferencia de embriones (TE) es una herramienta de gran utilidad en los programas de selección genética animal. En la mayoría de las ocasiones se transfieren embriones crioconservados, a los que se le han añadido crioprotectores para evitar los daños provocados por el frío. Estos agentes crioprotectores deben ser retirados del embrión durante la descongelación, puesto que son tóxicos a temperatura ambiente. La posibilidad de transferir embriones directamente desde la pajuela utilizada en la congelación a la hembra receptora permitiría un manejo más eficiente de las receptoras y una mayor flexibilidad (Voelkel y Hu, 1992); además los embriones pueden ser descongelados minimizando la utilización de material de laboratorio y la presencia de personal altamente cualificado en el manejo y evaluación de los embriones. Por lo tanto esta técnica evita las discusiones relativas a la evaluación de los embriones en las transferencias realizadas a nivel comercial, ya que ésta no se realiza (Baril y col., 2001).

En este trabajo se ha estudiado la aplicación de la transferencia directa de embriones ovinos congelados con un método clásico, con o sin inclusión de sacarosa en la pajuela de congelación, o vitrificados con inclusión de galactosa en la pajuela, en condiciones de campo y de laboratorio.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **Obtención y crioconservación de los embriones**

Los embriones fueron obtenidos de ovejas Manchegas sincronizadas con una esponja de acetato de flourogestona (FGA) y superovuladas con ocho dosis decrecientes de la hormona FSH ovina (González-Bulnes y col., 2002), en el día 6 tras la retirada del progestágeno. Una vez evaluados morfológicamente (Overström, 1996), los embriones se distribuyeron al azar entre tres grupos de crioconservación. En el primero de ellos (control) se realizó una congelación clásica con etilenglicol (ETG) añadido en dos pasos en concentraciones crecientes (Cocero y col., 1996). La pajuela se rellenó con 3 columnas de ETG 1.5 M separada por burbujas de aire, quedando los embriones en la columna central. Las pajuelas se introdujeron en un biocongelador de alcohol y se aplicó una curva de disminución de la temperatura de forma controlada desde 18 °C hasta -35 °C, efectuándose la inducción de la cristalización a -7 °C. El segundo grupo de embriones (ETG + S), fueron

---

\* Dirección actual: Dpto de Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Avda Puerta de Hierro s/n, 28040- Madrid.  
Financiado por un proyecto de Investigación UCLM 2004.

congelados con el mismo procedimiento que el grupo control, pero además se incluía sacarosa en la pajuela (modificación del método descrito por Leibo, 1984). Así ésta quedaba finalmente compuesta por una primera columna de PBS suplementado con suero fetal bovino (PBSS), una segunda columna con los embriones en ETG 1.5 M y una última columna con sacarosa 1 M, encontrándose separadas las columnas con burbujas de aire. El tercer grupo de embriones fueron vitrificados con concentraciones crecientes de la mezcla de crioprotectores ETG y glicerol, siendo incluida en la pajuela la macromolécula galactosa (Baril y col., 2001). La pajuela constaba de una primera columna de galactosa, una segunda columna con los embriones en el medio de vitrificación y una última columna con galactosa.

#### Descongelación, transferencia y cultivo

El método de descongelación de las pajuelas dependió del protocolo empleado para su congelación. Así, en los embriones control se efectuó exponiendo las pajuelas 10 segundos en aire y 30 segundos en agua a temperatura de 32 °C, siendo posteriormente retirado el crioprotector con sacarosa 1 M en el pocillo durante 10 minutos. Se realizaron tres lavados en PBSS de 5 minutos, y los embriones se transfirieron a las receptoras (n = 11) o fueron cultivados *in vitro* (n = 10). Los embriones del grupo ETG+S fueron descongelados permaneciendo 5 minutos en agua a 37 °C, siendo agitados vigorosamente con el fin de que se pudieran mezclar las distintas columnas de la pajuela. Los embriones se expelieron sobre un pocillo y se transfirieron a las receptoras (n = 6) o, tras tres lavados en PBSS de 5 minutos fueron cultivados *in vitro* (n = 8) de igual manera que en el grupo anterior. La desvitrificación de los embriones se realizó en agua a 20 °C durante 10 segundos, agitando para permitir la mezcla de las columnas. Los embriones para la TE se introdujeron directamente en las receptoras (n = 11), mientras que los embriones destinados a cultivo (n = 8) se mantuvieron en un pocillo con el contenido de la pajuela durante 5 minutos, realizándose 3 lavados sucesivos de 5 minutos en PBSS antes de proceder a su cultivo.

Para la TE, un total de 28 ovejas receptoras fueron sincronizadas mediante una esponja de FGA y una dosis de la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG). La TE se realizó depositando dos embriones en el cuerno uterino ipsilateral al ovario que presentaba cuerpo lúteo mediante un Tom-cat. En el día 42 tras la TE se llevó a cabo el diagnóstico de gestación mediante ecografía transabdominal.

El cultivo embrionario se realizó en TCM 199 suplementado con 10% de suero fetal bovino y 1% de glutamina (García-García, 2003) en un incubador a 38.5 °C con el 5% de CO<sup>2</sup> y humedad relativa del 90%. Se efectuaron controles diarios hasta la eclosión de los embriones.

#### Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se empleó el método de Chi cuadrado, utilizando la corrección de Yates en los casos en los que fue necesario. Se consideró como significación estadística  $P < 0.05$ .



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares obtenidos tras la TE indican que el índice de gestación en las hembras a las que se le transfirió embriones control fue mayor al de las receptoras que recibieron embriones vitrificados, aunque la diferencia no alcanzó nivel de significación (63,6 vs 45,4%, N.S.); asimismo fue mayor, mostrando una tendencia a la significación estadística, respecto a las de embriones congelados con sacarosa en la pajuela (63,6 vs 16,6%,  $P = 0.06$ ). Por otro lado, la supervivencia *in vitro* hasta blastocisto de los embriones cultivados fue semejante para los tres grupos (Tabla 1). Sin embargo, el índice de eclosión fue significativamente menor para los embriones vitrificados que para los del grupo control (0,0 vs 50,0%,  $P < 0.01$ ), y también menor en relación con la tasa de gestación en las receptoras que recibieron embriones vitrificados (0,0 vs 45,4%,  $P < 0.05$ ). No tenemos conocimiento de la existencia de ningún trabajo que haya estudiado la comparación de estos tres tipos de congelación. No obstante, estos datos coinciden con los obtenidos por Baril y col. (2001) y Dattena y col. (2004), los cuales indican un índice similar de gestación para los blastocistos vitrificados transferidos directamente que para los controles. Sin embargo, los reducidos resultados obtenidos en este trabajo en la eclosión de los embriones vitrificados no resultan fisiológicamente explicables, y sólo podemos atribuirlo al pequeño tamaño muestral estudiado. Respecto a los resultados hallados para los embriones congelados por el método clásico con inclusión de sacarosa en la pajuela, son similares *in vivo* e *in vitro*, y algo menores a los encontrados por Leibo (1984) en bovino.

Estos resultados preliminares indican la necesidad de continuar con estudios que nos permitan mejorar el rendimiento de los métodos y técnicas utilizados, para optimizar los rendimientos de la transferencia directa.

Tabla 1. Porcentaje de hembras gestantes tras TE e índice de supervivencia a blastocisto y blastocisto eclosionado en cultivo (%) de mórulas congeladas con ETG por el método clásico, congeladas con ETG con inclusión de sacarosa en la pajuela y vitrificadas con adición de galactosa en la pajuela.

Tratamiento	T.E (%)	Cultivo (%)	
		Blastocisto	Eclosionado
Control	7/11 (63,6)	5/10 (50,0)	5/10 (50,0) <sup>a</sup>
ETG+S	1/6 (16,6)	4/10 (40,0)	2/10 (20,0)
Vitrificación	5/11 (45,4) <sup>ac</sup>	3/8 (37,5)	0/8 (0,0) <sup>b</sup>
Total	13/28 (46,4)	12/28 (42,9)	7/28 (25,0)

Distintas letras en distintas columnas indican significación estadística

<sup>ab</sup>  $P < 0.01$ , <sup>bc</sup>  $P < 0.05$

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baril y col. *Theriogenology* 2001;56:299-305.  
 Cocero y col. *Cryobiology* 1996; 33(5):502-7.  
 Dattena y col. *Theriogenology* 2004; 62:481-493.  
 García-García, R.M. 2003. INIA Tesis Ganaderas, Serie 5.  
 Gonzalez-Bulnes y col. *Theriogenology* 2002; 58:1607-14.  
 Leibo, S.P. *Theriogenology* 1984; 21:767-790.  
 Overstrom, E.W. *Theriogenology* 1996; 45:3-16.  
 Voelkel, S.A; Hu, Y.X. *Theriogenology* 1992; 37:23-37.

## **IDENTIFICACIÓN DE GLICOPROTEÍNAS ASOCIADAS A LA GESTACIÓN (PAGs) EXPRESADAS EN RUMIANTES DOMÉSTICOS ANTES DE LA IMPLANTACIÓN**

**B. Serrano<sup>1</sup>, B. Aguilar<sup>1</sup>, F. López-Gatius<sup>2</sup> y J.M. Garbayo<sup>1</sup>**

1: Dpto. Tecnología en Producción Animal, CITA-Gobierno de Aragón.

2: Dpto. Producción Animal, ETSIA, Universidad de Lérida.

jmgarbayo@aragon.es

### **INTRODUCCIÓN**

La formación del blastocisto atribuye las células de la mórula a dos linajes, el botón embrionario, que dará lugar al feto y parte de la placenta y el trofoectodermo, que originará la capa más externa de la placenta. Un embrión o feto con todas sus membranas y estructuras accesorias se denomina concepto. En rumiantes el trofoectodermo se caracteriza por la presencia de hasta un 20% de células binucleadas que se fusionan con las células del epitelio uterino para formar células gigantes trinucleadas (vaca) ó un sincitio (ovejas y cabras) dando lugar a una forma limitada de invasión. Los productos de secreción de las células binucleadas, entre los que se encuentran el lactógeno placentario y muchas PAGs, alcanzan la circulación general de la madre y, en el caso de las PAGs, su detección en sangre se ha utilizado como diagnóstico de gestación y de bienestar fetal. Entre los productos segregados por las células mononucleadas del trofodermo se encuentra el interferón  $\tau$ , responsable del reconocimiento materno de la gestación y algunas PAGs.

Las PAG son una familia multigénica, relacionada con las proteasas aspárticas, expresadas en el trofoectodermo de la placenta de Artiodáctilos (rumiantes y suidos) (Xie y col.1991, Xie y col.,1997). En rumiantes, el lugar de expresión y análisis filogenéticos sencillos permiten clasificar las PAGs en dos grandes grupos (Green y col., 2000). El grupo I, muy abundante, se expresa en las células binucleadas. Son un grupo de origen evolutivo reciente, sometido a evolución positiva de manera que está favorecida su diversificación, posiblemente relacionada con una mayor capacidad de unir diferentes péptidos, lo que podría estar relacionado con la tolerancia inmunológica del feto. Las PAGs del grupo II, en menor número, se expresan de manera más uniforme por todo el trofoectodermo, son más cercanas a las proteasas aspárticas y, en general, tienen conservado el centro activo, por lo que no se puede descartar una función proteolítica.

Los objetivos de este trabajo fueron detectar el comienzo de la expresión de PAG, utilizando para ello conceptos preimplantacionales, identificar el tipo de PAGs expresadas y posibilitar la clonación de nuevas PAGs.

### **MATERIAL Y METODOS**

#### **Obtención de embriones**

En ovino y caprino, los celos se sincronizaron mediante la inserción de esponjas vaginales de FGA (Intervet) durante 12 días y la aplicación de 440UI de PMSG (Foligon, Intervet) en el momento de la retirada. Se realizó una cubrición controlada y los conceptos se recogieron 12 (n=4) ó 14 (n=4) días después en ovino, y 12 (n=5), 14 (n=3), 15 (n=2), 16 (n=5) ó 18 (n= 4) días después en caprino. En bovino, las vacas se inseminaron artificialmente y los conceptos se recuperaron los días 15 (n=3) ó 18 (n=1) después del celo.

## Transcripción inversa y PCR (RT-PCR)

Se extrajo el ARN total de los conceptos con TRI-REAGENT™ (Sigma) y éste se utilizó para la transcripción inversa (RT+), con la enzima Superscript™ II Rnase H<sup>-</sup> (Invitrogen), siguiendo el protocolo recomendado para la enzima. Como cebadores se utilizaron oligo dT (p(dT)<sub>15</sub>, (Roche) o random primers (3µg/µl, Invitrogen), en un volumen final de 20µl. Como control de contaminación genómica se realizó una reacción paralela sin transcriptasa inversa (RT-), y de control positivo se utilizó ARN extraído de placenta ovina de mitad de gestación, que expresa un gran abanico de PAGs.

El cDNA se amplificó con un cebador general derecho, boPAG1-5', cuya secuencia se encuentra conservada en la mayoría de las PAGs clonadas, y varios cebadores reversos específicos de distintas PAGs: ovPAG2-3', boPAG2-3' y PAG1-3'. En un volumen final de 25µl se utilizó 1µl de reacción de transcripción inversa (RT+ y RT-), 50µM de cada dNTP, 0.06µM de cada cebador, 0.5µl de DNA Polimerasa (1U/µl) que contenía pfu polimerasa en proporción 9:1 y tampón con 2mM de MgCl<sub>2</sub>. La reacción de PCR constaba de 40 ciclos de desnaturalización a 94° C (30 seg), hibridación entre 58° C y 65° C (30 seg) y elongación a 72° C (1 min). Los fragmentos se resolvieron en geles de agarosa al 1% y se visualizaron y digitalizaron con Gel Doc 2000 (Bio-Rad). El tamaño esperado de los fragmentos era entre 1.1 y 1.2 Kb.

Los productos de PCR, después de purificados con el kit Real Clean Matrix (Durviz), se subclonaron en E. Coli mediante el empleo de pGEM®-T Easy Vector System (Promega). De cada producto de PCR clonado se seleccionaron 10 colonias. El aislamiento de plásmidos se realizó con el kit Wizard® Plus (Promega), controlándose la presencia de inserto mediante digestión con EcoRI. Los plásmidos recombinantes se secuenciaron con el cebador plasmídico m13 derecho. La identidad de los insertos se comprobó mediante la búsqueda en el banco de genes. Secuencias similares, con más del 98% de identidad, se alinearon con Bio Edit (Tom may, IbisTherapeutics, Carlsbad, CA) y se estableció una secuencia consenso. Aquellos insertos cuyas secuencias tenían menos del 98% de identidad con otras conocidas se secuenciaron completamente por duplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En ovino, se recuperaron 5 (día 12) y 10 (día 14) conceptos. En ambos casos, se generaron productos de PCR con los cebadores reversos ovPAG2 y boPAG2, pero no con PAG1. La secuencia consenso obtenida a partir de insertos de ambos productos era idéntica a ovPAG2 (NM\_001009782), única PAG del grupo II identificada hasta el momento en ovino. Se han clonado lo que podrían considerarse homólogos funcionales de ovPAG2 tanto en caprino (caPAG2, AF191327) como en bovino (boPAG11, NM\_176623) (Xie y col., 1997).

En bovino, se obtuvo expresión de PAG a partir de conceptos de 15 (n=3) y de 18 días (n=1) con los cebadores reversos boPAG2-3' y PAG1-3', pero no con ovPAG2-3'. Los productos de PCR procedentes del concepto de 18 días se subclonaron y se secuenciaron. Veinte de los 21 insertos secuenciados eran similares entre sí y la secuencia consenso era idéntica a boPAG2 (NM\_176614). BoPAG2 es una PAG del grupo II y podría representar un factor que se une al receptor de la LH del cuerpo lúteo (Xie y col., 1994). El inserto restante resultó ser una nueva PAG que se denominó boPAG22 (AY911498) por orden de clonación y que presentaba la mayor homología con boPAG2 (97% nt y 94,6% aa). Este sería el primer caso en que se detecta diversificación muy reciente de una PAG del grupo II.

A diferencia de lo que ocurrió en ovino, en caprino no se detectó expresión de PAG a partir de conceptos de 12 (n=6), 14 (n=9) y 15 (n=2) días, pero sí en los de 16 (n=5) y 18 (n=4) días. Hay que señalar que, a diferencia de lo que ocurrió en ovino, los conceptos de 12 y 14 días de cabra no estaban elongados. Se generaron productos de PCR a los 16 y 18 días con los tres cebadores reversos, aunque en mucha menor cantidad cuando se utilizó boPAG2-3'. La secuencia consenso proveniente del producto de PCR generado con ovPAG2-3' fue similar a caPAG2 (AF191327), perteneciente al grupo II, excepto por 5 nucleótidos que se tradujeron en 3 aminoácidos diferentes. Estos mismos aminoácidos se encuentran en ovPAG2, posible homóloga funcional de caPAG2, y las diferencias con la caPAG2 clonada a partir de placenta (Garbayo y col., 2000) podrían ser debidas a que se utilizaron razas de cabras diferentes (Blanca Celtibérica en embriones vs. Alpina en placenta) y que la raza de la que se obtuvieron los embriones sea más próxima genéticamente a la oveja.

Todos los transcritos provenientes del producto de PCR obtenido a partir de PAG1-3' fueron similares entre sí y diferentes (<90%) a cualquier PAG identificada hasta el momento, por lo que uno de ellos se secuenció completamente por duplicado. La nueva PAG, que se denominó caPAG12 (AY911497), presentó la mayor homología con boPAG15 (90% nt, 83% aa; AF192332). Por proximidad genética así como por la conservación del sitio de escisión del propéptido (ISF↓RGS), característico de las PAGs pertenecientes al grupo I, se asignaría caPAG12 a este grupo. No obstante, esto confinaría con mayor probabilidad su lugar de expresión a las células binucleadas del trofotodermo pero Wango y col. (1990) no observaron la aparición de células binucleadas en cabras hasta 18 días después de la cubrición. Así pues, resultaría muy interesante el estudio del lugar de expresión de esta nueva PAG caprina.

En todas las especies en estudio se detectó expresión simultánea de PAGs y de interferón  $\tau$  (datos no mostrados).

En resumen, este trabajo ha permitido conocer que los ruminantes domésticos expresan un número limitado de PAGs antes de la implantación, la mayoría pertenecientes al grupo II. Además se han clonado dos PAGs nuevas, una en bovino, boPAG22 y otra en caprino, caPAG12.

## BIBLIOGRAFÍA

- Garbayo, J. M., y col., (2000). "Caprine Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAG): their cloning, expression, and evolutionary relationship to other PAG." *Mol. Reprod. Devel.* **57**: 311-322.
- Green, J. A., y col., (2000). "Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy." *Biol. Reprod.* **62**: 1624-1631.
- Wango, E. O., y col., (1990). "The role of trophoblast binucleate cells in implantation in the goat: a quantitative study." *Placenta* **11**: 381-394.
- Xie, S., y col., (1991). "Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**: 10247-10251.
- Xie, S., y col., (1994). "A novel glycoprotein of the aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophoblast." *Biol. Reprod.* **51**: 1145-1153.
- Xie, S., y col., (1997). "The diversity and evolutionary relationships of the pregnancy-associated glycoproteins, an aspartic proteinase subfamily consisting of many trophoblast-expressed genes." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 12809-12816.
- Este estudio ha sido financiado por el proyecto INIA RTA-02-094.

## ESTUDIO DE LOS PRINCIPALES INDICADORES REPRODUCTIVOS EN BOVINOS LECHEROS EN LA REGIÓN DE ENTRE DOURO E MINHO

Dias, M.<sup>1,2</sup>; Carvalheira, J.<sup>3</sup>; Rocha, A.<sup>3</sup>; Martins, A.<sup>2</sup>; Brito, N.<sup>1</sup>; Lopes, J.<sup>1</sup>; Soares, L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, 4990-706 Refoios do Lima, Ponte de Lima, Portugal.

<sup>2</sup> – ABLN – Associação de Apoio à Bovinicultura Leiteira do Norte - Avenida D. António Bento Martins Júnior, 86-2º, 4480-664 Vila do Conde, Portugal.

<sup>3</sup> – ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto, Portugal.

### INTRODUCCIÓN

La producción lechera tiene gran importancia económica en la agricultura de la región de Entre Douro e Minho (EDM). Esta se ubica al Noroeste de Portugal y posee las condiciones ecológicas apropiadas para la producción de leche, concentrando el 32% del total de las explotaciones lecheras del país. Este efectivo bovino lechero se aproxima a los 115.000 animales, distribuidos en 10.543 explotaciones de pequeña dimensión (superficie agrícola útil de 3,2 ha) (INE, 2003).

Este estudio se realizó con el efectivo lechero de la comarca de Barcelos, que entre las 56 comarcas del EDM es la mayor productora de leche (27% del total). La Cooperativa Agrícola de Barcelos (CAB) es la estructura de apoyo principal a la ganadería bovina lechera, tomando a su cargo los servicios de inseminación artificial (IA) y asumiendo junto con la “Associação de Apoio à Bovinicultura Leiteira do Norte (ABLN)” los trabajos de mejora genética animal. Sin embargo, en los últimos años algunas explotaciones han apostado por la creación de sus propios centros de IA, dejando de recurrir al CAB para los servicios de inseminación.

Existen grandes diferencias estructurales y productivas entre las explotaciones que tienen sus centros privados de IA (PRIV) y los restantes que recurren a la CAB. Según distintos autores, los PRIV de esta comarca tienen una producción media de leche, a los 305 días, de 9.300 litros y un efectivo medio en lactación superior a 100 animales, mientras las restantes explotaciones de CAB presentan una producción de 7.800 litros y un efectivo medio de 11 hembras en lactación (ANABLE, 2004).

La rentabilidad de las actuales explotaciones lecheras está íntimamente relacionada con aspectos reproductivos. Para evaluar esta relación, en la producción lechera, se utilizan un grupo de indicadores que reflejan la eficacia del manejo y, principalmente, los programas de IA. El análisis y la interpretación de estos indicadores debe ser la base para la toma de decisiones relativas al manejo reproductivo (CVTONA, 2000). El presente estudio pretende determinar y valorar los indicadores reproductivos de los bovinos lecheros, particularmente del EDM, con base en los resultados comparativos de las explotaciones que recurren a la CAB y las explotaciones PRIV.

### MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se analizaron datos de hembras de la raza Holstein Frísia (que representan el 99% de los bovinos lecheros contrastados en la región), recogidos por la ABLN, de enero 2001 a agosto 2004 para las inseminaciones (CAB= 46.289 IA, 12.684 animales; PRIV= 4.446 IA, 2.089 animales), y de enero 1998 a septiembre 2004 (CAB – 31.286; PRIV – 4.746) para los partos.

Los indicadores reproductivos estudiados fueron: el intervalo entre partos (IP), la edad al primer parto (1ºP), el intervalo parto-primera IA (P/1ªIA), intervalo parto-preñez (PP), número de IA por preñez (IA/P) y tasa de detección de celos (TDC).

Para el análisis estadístico, se consideraron los distintos modelos:

**1ºP:**  $Y_{ijk} = AM_i + O_j + e_{ijk}$ , en que 1ºP es la edad expresada en meses; AM-efecto del año-mes; O-efecto del origen (CAB o PRIV) y e -error residual;

**P/1ªIA:**  $Y_{ijklm} = R_i + AE_j + P_k + O_l + e_{ijklm}$ , en que **P/1ªIA** es el intervalo en días entre el parto y la 1ª IA subsiguiente; *R*-efecto de la explotación; *AE*-efecto del año-estación; *P*-efecto clase de parto;

**PP:**  $Y_{ijklmno} = R_i + AE_j + P_k + I_l + F_m + O_n + e_{ijklmno}$ , en que **PP** es el intervalo expresado en días entre el parto y la subsiguiente IA fecundante, *I*-efecto clase de edad; *F*-efecto del número de orden de la IA fecundante;

**IP:**  $Y_{ijklmn} = R_i + AE_j + P_k + I_l + O_m + e_{ijklmn}$ , en que **IP** es el intervalo expresado por la diferencia en días entre dos partos consecutivos para un mismo animal;

**IA/P:**  $Y_{ijklm} = R_i + AE_j + P_k + O_l + e_{ijklm}$ , en que **IA/P** es el número de inseminaciones necesarias para que una hembra quede preña;

**TDC:**  $Y_{ijkl} = R_i + AE_j + O_k + e_{ijkl}$ , en que **TDC** refleja el porcentaje de celos aprovechados sobre el total de celos posibles a lo largo del PP. Este índice ha sido calculado por la fórmula de O'Connor y Senger (1997):

$$TDC = \frac{N^{\circ} \text{ orden de IA fecundante}}{((PP - (PVE + 10))/21) + 1} * 100,$$

en que *PVE* es el período voluntario de espera.

Para el análisis estadístico fueron utilizados los programas SAS –“Statistics Analysis System” y “SPSS para Windows.” Fueron calculados estadísticamente indicadores de tendencia central e indicadores de dispersión.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Posteriormente a la eliminación de los datos que se encontraban fuera de los rangos definidos para cada uno de los índices, se obtuvieron los resultados que se presentan: en la Tabla 1 los resultados globales para la comarca de Barcelos (**CAB**, Cooperativa agrícola de Barcelos + **PRIV**, explotaciones que tienen sus centros privados de Inseminación artificial), en la Tabla 2 los resultados separadamente, para posterior comparación entre ellos.

**Tabla 1.** Eficacia reproductiva en la comarca de Barcelos (resultados globales)

	$\bar{X} \pm s$	n
1ºP (meses)	28,4±3,9	10.910
P/1ªIA (días)	97,1±30,9	17.329
PP (días)	120,6±39,7	11.290
IP (días)	423,8±84,8	22.019
IA/P (nº)	1,64±1,04	17.363
TDC (%)	32,5±14,9	12.262

**Tabla 2.** Indicadores reproductivos en función del origen (promedios ajustados a los modelos).

	CAB		PRIV	
	$\bar{X} \pm SEM$	n	$\bar{X} \pm SEM$	n
P/1ªIA (días)	98,7 ± 3,3 <sup>a</sup>	15.373	106,9±4,6 <sup>b</sup>	1.956
PP (días)	163,9±4,2 <sup>a</sup>	10.256	186,1±10,3 <sup>b</sup>	1.034
IP (días)	392,5±1,9 <sup>a</sup>	19.227	393,2±2,5 <sup>a</sup>	2.792
IA/P (nº)	1,65±0,04 <sup>a</sup>	15.766	1,35±0,13 <sup>b</sup>	1.597
TDC (%)	31,8±0,6 <sup>a</sup>	11.168	23,3±3,3 <sup>b</sup>	1.094

<sup>a</sup> ≠ <sup>b</sup>, *P* < 0,05

El promedio global de **1ºP** es bastante superior al considerado ideal por Fetrow *et al.* (1997) (22-25 meses). Este factor puede ser efecto de una recría descuidada,

acarreado daños y perjuicios para las explotaciones. Recio y Pérez-Cabral (2003) han encontrado en España (País Vasco y Navarra) valores de **1ºP** ligeramente inferior (28 meses), mientras Rocha *et al.* (2001) encontraron valores ligeramente superiores ( $32\pm 6$  meses) en las explotaciones de Vila do Conde (EDM).

El indicador **P/1ªIA** es bastante superior a los valores óptimos considerados por Fetrow *et al.* (1997) (60-70 días). Recio y Pérez-Cabral (2003) han encontrado resultados muy positivos en contraste a los obtenidos por nosotros en este estudio (81 días). Las explotaciones PRIV presentan una tendencia significativa para la **1ªIA**, siendo más tardía que en CAB (Tabla 2), con una tendencia idéntica a la encontrada por Costa (1996) en la Beira-Litoral e Ribatejo ( $75,8\pm 11,2$  y  $84,5\pm 4,0$ , para las cooperativas y para los PRIV, respectivamente).

El **PP** también es superior al considerado ideal por Fetrow *et al.* (1997) (85-120 días) (Tabla 1). Es más largo en PRIV que en CAB, como también observó Costa (1996) ( $107,1\pm 18,1$  y  $114,6\pm 14,8$ , para Cooperativas y PRIV) (Tabla 2). Recio y Pérez-Cabral (2003) han encontrado un **PP** de 116 días, valor inferior a lo que nosotros encontramos en este estudio.

El **IP** encontrado en las explotaciones de Barcelos (Tabla 1) es superior a los valores óptimos para este indicador (365 días) y superior a los encontrados entre otros autores como Recio y Pérez-Cabral (2003) (397 días).

El indicador **IA/P** es el más positivo de todos, encuadrándose en los valores óptimos referidos por la bibliografía y el valor encontrado por Recio y Pérez-Cabral (2003) (1,9 **IA/P**), pero ligeramente peor que el valor obtenido por Rocha *et al.* (2001) ( $1,4\pm 0,7$ ). Los PRIV han obtenido resultados significativamente mejores que CAB (Tabla 2).

La **TDC** encontrada por nosotros (Tabla 1) ha sido semejante a la encontrada por Rocha *et al.* (2001) ( $38,1\pm 16,9\%$ ), pero muy baja cuando se compara con la de Mayne *et al.* (2002) (71%) en Irlanda del Norte.

Haciendo una síntesis conclusiva de los resultados encontrados se puede referir que el mayor problema relativo al manejo reproductivo en la región de EDM es debido a una tardía detección de los celos, presentando las explotaciones PRIV resultados superiores para los indicadores **P/1ªIA**, **PP** e **IP** comparativamente a CAB. Para el indicador que mide más directamente la fertilidad (**IA/P**) se han obtenidos buenos resultados. Los PRIV han obtenido mejores resultados una vez que hacen inseminaciones más tardías encontrando las hembras a la salida del balanceo energético negativo y con mayor fertilidad. Analizando todos los indicadores, verificamos que la especialización de las explotaciones PRIV es más evidente en las condiciones productivas que en las condiciones reproductivas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANABLE, 2004. ABLN, Publicação de resultados de 2003.
- Costa, L. F. L., 1996. Encontro de directores de sub-centros de inseminação artificial de bovinos, Lisboa, 17 pp.
- CVTONA, 2000. Site disponible: Clínica veterinaria de Tona, URL: <http://www.cvtona.com/revista/articulo23.htm>, consultado em 07/05/2004.
- Fetrow J. et al., 1997. In *Current therapy in large animal theriogenology*, W.B. Saunders company, Philadelphia, 441-450.
- INE, 2003. Infoline- serviço de informação online do INE. Site disponível: URL:[http://www.ine.pt/prod\\_serv/Rga/rga99](http://www.ine.pt/prod_serv/Rga/rga99), consultado em 17/5/2004.
- Mayne C. S. et al., 2002. *Veterinary Record*, Nº 150, 707-713.
- O'Connor, M. L. e Senger, P.L., 1997. Estrus detection. In *Current therapy in large animal theriogenology*, W.B. Saunders company, Philadelphia, 276-284.
- Recio, O. G. e Pérez-Cabral M. A., 2003. *Frisona Española*, Nº 133, 92- 94.
- Rocha A. et al., 2001. *Reproduction in domestic animals*, Nº36, 319-324.

## **FERTILIDAD EN VACAS DE RAZA MORUCHA: FACTORES DE VARIACIÓN**

Pablo Beltrán Barriga<sup>1</sup>; S. Álvarez Sánchez-Arjona<sup>1</sup>; M.J. Álvarez Sánchez-Arjona<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Salamanca. Filiberto Villalobos 119, 37007 Salamanca

<sup>2</sup>Universidad de Navarra. Manuel de Lardizábal 13, 20009 San Sebastián

### **INTRODUCCIÓN**

En las explotaciones de vacas de carne, la fertilidad es la variable de mayor importancia económica. Para evaluar dicha variable, es posible emplear el intervalo entre partos (IP), especialmente cuando se emplean parideras continuas; en cualquier caso, incluso cuando se utilizan parideras concentradas, en periodos largos, se trata de un parámetro que permite valorar la eficacia reproductiva de las hembras en producción (López De Torre *et al*, 1989).

Algunas prácticas de manejo habituales en los sistemas de producción extensivos de la zona de dehesa, en la que se encuentra la raza Morucha, podrían suponer una pérdida de eficacia en la reproducción. Tal puede ser el caso de la edad al destete o de la época de parto. Resulta de interés, por tanto, analizar la influencia que algunos patrones de manejo puedan tener en la reproducción.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto sobre el IP de algunos factores ligados al sistema de producción de vacas de raza Morucha en Salamanca, de manera que se pueda valorar el interés de modificar algunas pautas de manejo de este tipo de explotaciones.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha utilizado la información correspondiente a 713 partos que tuvieron lugar entre 1995-96 y 2001-02 en 6 ganaderías de Salamanca. En todas ellas el manejo fue similar, con aprovechamiento de pastos naturales y suplementación con forrajes y concentrados en épocas de escasez, cubrición concentrada en periodos de 6 a 8 meses y lactación natural que dura generalmente unos 7 meses. Las ganaderías pertenecen al programa de control de rendimientos de la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno de Raza Morucha Selecta y los partos controlados corresponden a terneros de raza pura Morucha, si bien es habitual la utilización de cruzamiento industrial con Charolés, Limusín y otras razas mejorantes.

Los datos utilizados corresponden, pues, a las vacas que se destinan a la obtención de terneras de reposición en la explotación. Generalmente, dentro de cada ganadería, el resto de hembras reproductoras se destina al cruzamiento industrial y cada uno de los dos lotes de vacas permanece con el mismo semental a lo largo de todo el periodo de cubrición. El manejo de ambos grupos de animales, por lo demás, es idéntico.

El análisis estadístico se ha realizado mediante un análisis de covarianza. El intervalo entre partos es la variable dependiente en un modelo en el que se incluyen el año, la estación de parto y la ganadería como efectos fijos, ya que son variables discretas, la interacción entre el año y la estación de parto y la edad al destete previo como covariable, puesto que se trata de una variable continua. Los análisis se efectuaron a través del Modelo General Lineal (GLM), de Statgraphics Plus.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El promedio obtenido del intervalo entre partos (IP) fue de 366,6 días, con un mínimo de 362,8 y un máximo de 370,4 días. El número de IP con valores mayores a los 365 días (12 meses), representó un 47% del total de IP. Se trata de un valor muy favorable, y es inferior a los valores reportados en la bibliografía para sistemas



de producción similares en el área de la dehesa (Daza y González, 1997; López de Torre *et al.*, 1989; Martín Bellido, 1985) y para otras condiciones (Osoro, 1986; Hinojosa *et al.*, 1980; Hernández-Reyes, 2001; Carrión *et al.*, 2002).

Es indudable, pues, que se trata de un valor óptimo para el intervalo entre partos, y a falta de trabajos que lo estudien en mayor detalle, se puede decir que no es el valor habitual para el conjunto de vacas de este tipo de explotaciones. No obstante, es preciso insistir en que el objetivo de este trabajo no es cuantificar este valor, sino analizar la influencia sobre él de algunos factores. Consideramos que la explicación de este valor del IP puede ser que se trata de ganaderías adscritas a un programa de control, lo que puede implicar un manejo esmerado, y sobre todo que dentro de ellas se trata de las hembras reproductoras que se han destinado al cruzamiento con un toro de la misma raza para obtener las hembras de reposición de los partos de estas vacas. Esto hace suponer que serán las vacas mejores y de mejor eficacia productiva dentro de las explotaciones. La información sobre una misma vaca supone que haya permanecido en ese grupo destinado a obtener la reposición al menos durante dos años consecutivos, y cualquier falta de eficacia en reproducción o cría provoca su salida del mismo.

El modelo es significativo, según el análisis de varianza ( $p < 0,01$ ), y lo son también el año, la estación de parto, la edad al destete previo y la interacción año por estación de parto. En cambio no se han encontrado diferencias significativas entre ganaderías ( $p > 0,05$ ). Solamente el 16,2% de la variabilidad de la duración del IP fue explicado por los factores analizados.

Las diferencias en el IP entre años son previsibles en sistemas extensivos, y pueden atribuirse a las variaciones interanuales de disponibilidad de pastos, biodisponibilidad de nutrientes y de los niveles de reservas corporales de las vacas, como indican Caballero de la Calle y Buxadé (1995), que afirman la existencia de variaciones interanuales de la fertilidad y del IP debidas a la variación en las condiciones climáticas. También encontraron diferencias en el IP entre años Daza y González (1997), Ormazábal y Osoro (1995), Mac Gregor y Casey (1999), Carrión *et al.* (2002); en todos los casos se trata de sistemas extensificados.

**Cuadro nº 1: Promedio y variación del Intervalo entre partos (IP) y edad al destete previo por año de parto (días)**

<b>Año</b>	<b>N</b>	<b>Promedio<sup>1</sup> (días)</b>	<b>Error Standard</b>	<b>Mínimo (días)</b>	<b>Máximo (días)</b>	<b>Edad al destete previo</b>
1995-1996	63	364,4 <sup>abc</sup>	5,6	353,5	375,3	215,8
1996-1997	90	355,9 <sup>a</sup>	4,8	346,4	365,4	205,8
1997-1998	91	365,9 <sup>abc</sup>	4,8	356,4	375,4	209,3
1998-1999	126	370,6 <sup>bc</sup>	5,3	360,2	381,0	207,4
1999-2000	107	359,2 <sup>ab</sup>	4,4	350,5	367,8	197,6
2000-2001	113	373,2 <sup>bc</sup>	4,5	364,4	382,0	206,2
2001-2002	123	377,2 <sup>c</sup>	3,7	370,0	384,5	204,9

<sup>1</sup> Dentro de una misma columna las cifras con una letra en común no difieren significativamente entre sí ( $p < 0,05$ ).

Los IP de los partos en primavera fueron significativamente más largos que los demás (Cuadro 2;  $p < 0,05$ ). Esto puede deberse a que las cubriciones correspondientes a estos partos se dan en verano, cuando hay limitación en los recursos disponibles y las temperaturas son mayores. Diferencias entre estaciones

del IP también han sido observadas por Ormazábal y Osoro (1995), Hernández-Reyes *et al.* (2001), Hinojosa *et al.* (1980), Martín Bellido (1985) y López de Torre *et al.* (1989). Sin embargo, otros autores no han encontrado influencia de la época de parto sobre el IP (Daza y González, 1997; Muñoz *et al.*, 1995; Carrión *et al.*, 2002), posiblemente porque las vacas fueron suplementadas, si bien en las ganaderías del presente trabajo también es práctica habitual. No obstante, también es significativa la interacción época de parto x año, lo que puede indicar que el efecto desfavorable de determinadas épocas de parto es diferente en los distintos años, posiblemente debido entre otras cosas a diferencias en la disponibilidad de pastos y a la climatología. Carrión *et al.* (2002) también observaron efectos estadísticamente significativos de la interacción año de parto x época de parto ( $p < 0,05$ ), e interpretan que esta interacción refleja los cambios interanuales en factores como manejo, aspectos climáticos o sanidad, por lo que el efecto de la época varía entre los diferentes años evaluados.

**Cuadro nº 2: Promedio y variación del Intervalo entre partos (IP) y edad al destete previo por estación de parto (días)**

Estación de parto <sup>1</sup>	N	Promedio <sup>2</sup> (días)	Error Standard	Mínimo (días)	Máximo (días)	Edad al destete previo
Otoño	143	358,8 <sup>a</sup>	3,9	351,2	366,5	226,3
Invierno	237	363,2 <sup>a</sup>	2,7	357,9	368,4	203,3
Primavera	274	380,9 <sup>b</sup>	2,4	376,2	385,6	197,6
Verano	59	363,6 <sup>a</sup>	5,7	352,4	374,8	207,9

<sup>1</sup> Otoño (Septiembre, Octubre, Noviembre); Invierno (Diciembre, Enero, Febrero); Primavera (Marzo, Abril, Mayo); Verano (Junio, Julio, Agosto).

<sup>2</sup> Dentro de una misma columna las cifras con una letra en común no difieren significativamente entre sí ( $p < 0,05$ ).

El coeficiente de la edad al destete en la ecuación de regresión que relaciona esta variable con el IP es 0,173; tanto el IP como la edad al destete están expresados en días. Así pues, un retraso de 10 días en el destete supone una ligera variación en el IP y los destetes tardíos no afectarían en gran medida a la eficiencia reproductiva.

### AGRADECIMIENTOS

A la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Vacuno de Raza Morucha Selecta por la colaboración prestada para la realización de este trabajo.

### REFERENCIAS

- Caballero de la Calle, J. y Buxadé, C. 1995. ITEA vol Extra 16(I): 404-406.
- Carrión, A.; Colmenares, O.; Herrera, P.; Birbe, B.; Martínez, N. 2002. Revista Científica-Fac. de Agronomía (Univ. Central de Venezuela) Vol. XII-Supl. 2: 449-451
- Daza, A. y González Gutiérrez-Barquín, M. 1997. Arch. Zootec. 46: 347- 355.
- Hernández-Reyes, E.; Segura-Correa, V.; Segura- Correa, J.; Osorio-Arce, M. 2001. Agrociencia 35: 699 – 705.
- Hinojosa, A.; Franco, A.; Bolio, I. 1980. *Trop. Anim. Prod.* 5 (2): 165-171.
- López de Torre, G.; García Barreto, L.J.; Jiménez Carmona, J.M. 1989. Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. 4(1): 45-51.
- MacGregor, R. G. y Casey, N. H. 1999. *Livest. Prod. Sci.*, 57(2): 181-191
- Martín Bellido, M. 1985. Colección Tesis Doctorales nº 55. INIA. Madrid.
- Muñoz Vilches, P.; Tapia Román, N.; Molina, A. 1995. Arch. Zootec. 44: 247-255.
- Ormazábal, J.; Osoro, K. 1995. ITEA vol. Extra 16, Tomo I, 407 – 409.
- Osoro, K. 1986. Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. 1: 89 – 111.

## **UTILIZACIÓN DE ESPIRALES INTRAVAGINALES EN EL CONTROL REPRODUCTIVO DE EXPLOTACIONES DE VACUNO EN ZONAS DE MONTAÑA\***

García Paloma, J.A.<sup>(1)</sup>; Lombardía Álvarez, V.<sup>(2)</sup>; Martínez López M.A.<sup>(2)</sup> y Suárez Sánchez F.<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup>SERIDA, Asturias. jagarcia@serida.org. Veterinarios de Cangas del Narcea<sup>(2)</sup> y Belmonte de M.<sup>(3)</sup>

(\*) Proyecto concertado con ASEAVA y financiado por el Plan de I+D+I de Asturias 2001-2004.

### **INTRODUCCIÓN**

En Asturias, la producción de carne con vacas de cría fundamentalmente se lleva a cabo con la raza Asturiana de los Valles en zonas de montaña. Este sistema de producción se caracteriza por explotaciones de pequeña dimensión (25-40 vacas) y por un manejo diferenciado en tres períodos: uno de 3 a 5 meses de estabulación invernal (diciembre-abril), otro de pastoreo en fincas situadas dentro del perímetro de la explotación y un tercero, donde el ganado a partir de los meses de mayo y junio aprovecha pastos comunales de altura.

En este contexto, la rentabilidad se ha asociado positivamente al porcentaje de terneros cebados y a la planificación de la paridera al período septiembre-febrero (6). Actualmente, la paridera en el período aludido está en la raza en torno al 43 %, por lo que la evolución de las explotaciones hacia esta nueva orientación productiva pasa necesariamente por controlar el comportamiento reproductivo de los rebaños en un período, el invierno, donde la actividad ovárica y su manifestación con síntomas claros de celo, son claros factores limitantes.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Durante los años 2002 a 2004 se aplicó un programa reproductivo en 19 explotaciones con visitas cada 14 días durante el período diciembre-abril, donde se realizaron los siguientes controles reproductivos: diagnóstico de actividad ovárica por palpación en las novillas de primera cubrición y a partir de los 40 días postparto en novillas y vacas paridas, tratamiento con espirales intravaginales (PRID) en los casos de anestro, inseminación a tiempo fijo del ganado tratado con espiral en la visita anterior y diagnóstico de gestación por palpación rectal a partir de los 50 días desde el último servicio. Se diagnosticó anestro cuando en dos controles consecutivos los ovarios no evidenciaron estructura alguna de ciclicidad y se acompañaron de niveles de progesterona inferiores a 2 ng/ml. La reactivación ovárica fue considerada cuando tras la retirada del PRID se evidenciaron síntomas de ciclicidad: celo, preñez al primer servicio, o un nuevo celo pasados 23 días de la retirada del PRID. Los datos de preñez fueron los obtenidos tras el diagnóstico efectuado por palpación rectal. El efecto del genotipo (presencia del gen de la hipertrofia muscular en homocigosis o en heterocigosis), del año y de la zona de ubicación de las ganaderías fue analizado sobre los parámetros reproductivos antes mencionados. Finalmente se evaluó el efecto del tipo de servicio: una, dos inseminaciones a tiempo fijo y la cubrición, sobre el porcentaje de preñez tras la retirada del PRID. Tras el primer servicio, la alternativa utilizada fue la cubrición.

Los datos fueron analizados por  $\chi^2$  a través del test Mantel-Haenszel utilizando el procedimiento FREQ del programa estadístico SAS (2004).

La aplicación de GnRH con posterioridad a la retirada de implantes de progestágenos o progesterona mejora el porcentaje de preñez cuando se opta por la inseminación a tiempo fijo (8). En base a ello, modificamos el protocolo propuesto por CEVA para vacas nodrizas (1), como se indica a continuación:

Control ovárico 1 Vitaminas AD <sub>3</sub> E	Control ovárico 2 Vitaminas AD <sub>3</sub> E PRID (anestro)	Retirada PRID + PMSG (1) (2)	1 IA a 60 hs + 100 µg GnRH 1ª IA a 48 hs – 2ª IA a 66 hs + 100 µg GnRH Cubrición	
-14	0	12	14	Días
(1) U.I. PMSG: 600 para novillas en anestro (paridas y de primera cubrición), 700 para vacas en anestro y 300 para todos los casos cuando manifestaron ciclicidad.				
(2) Cuando se optó por la cubrición y con el fin de no concentrar los servicios, la espiral se retiró a partir de los 10 días.				

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La incidencia de anestro, la reactivación ovárica tras PRID, el porcentaje de preñez al primer servicio y considerando los 30 días posteriores, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros reproductivos en novillas y vacas de cría tras tratamiento con PRID durante el período invernal.

	Novillas 1ª cubr.	Novillas 1º parto	Vacas	p
Anestro	79 <sup>1</sup> (234) <sup>2</sup>	75 (106)	40 (420)	**
Reactivación ovárica	94 (179)	95 (73)	95 (150)	n.s.
Preñez al 1º servicio	61 (155)	57 (63)	52 (139)	n.s.
Preñez tras 30 días	80 (135)	84 (50)	77 (122)	n.s.

1: porcentaje; 2: número de animales. n.s. no significativo; \* <0.01; \*\* <0.001.

Las novillas de primera cubrición y las novillas de primer parto presentaron mayor incidencia de anestro que las vacas, sin embargo la respuesta tras el tratamiento con PRID fue similar para las tres categorías. Los resultados de este ensayo coinciden con otros trabajos anteriores, donde también como en éste, se vio que el genotipo homocigoto presentó mayor incidencia de anestro que el heterocigoto (Tabla 2) (2). En Somiedo, la zona geográfica con mayor duración del período de estabulación invernal (cinco meses), hubo más incidencia de anestro que en las otras zonas donde el período invernal fue de tres meses (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del genotipo y de la zona de ubicación de las ganaderías sobre la presentación de anestro.

Genotipo		p	Zona				p
Homocig.	Heterocig.		Somiedo	CangasN1	CangasN2	BelmonteM	
69 <sup>1</sup> (426) <sup>2</sup>	42 (334)	**	79 (122)	56 (205)	40 (163)	59 (270)	**

1: porcentaje; 2: número de animales. n.s. no significativo; \* <0.01; \*\* <0.001.

La mayor duración del período de estabulación invernal en Somiedo puede explicar una mayor incidencia de los factores que han mostrado su efecto sobre la presentación de anestro: deficiencias nutricionales, el fotoperíodo o la oscuridad de las cuadras y la ausencia del toro (7; 9).

Analizando el rebaño en su conjunto (todas), el porcentaje de preñez al primer servicio puede considerarse muy satisfactorio en la alternativa de 2 inseminaciones a tiempo fijo y aceptable en las otras dos (Tabla 3).

Tabla 3. Preñez al primer servicio en función del tipo de servicio.

	<u>1 inseminación</u>	<u>2 inseminaciones</u>	<u> cubrición</u>	<u>p</u>
Todas	47 <sup>1</sup> (136) <sup>2</sup>	77 (35)	62 (146)	**
Novillas 1 <sup>a</sup> cubr.	61 (66)	94 (16)	60 (50)	*
Novillas 1 <sup>er</sup> parto	40 (20)	50 (8)	68 (28)	n.s.
Vacas	32 (50)	73 (11)	62 (68)	*
p	*	n.s.	n.s.	

1: porcentaje; 2: número de animales. n.s. no significativo; \* <0.01; \*\* <0.001.

No obstante, analizando por categorías la alternativa de una sola inseminación a tiempo fijo, podemos afirmar que el porcentaje de preñez obtenido con las novillas de primera cubrición es muy bueno, ya que es coincidente o superior al presentado en otros trabajos similares donde trabajaron con novillas cíclicas (4; 5). Con vacas en anestro y utilizando una inseminación, Martínez et al. (3) lograron también moderados resultados (46 % de preñez). Se puede concluir por tanto, que el protocolo propuesto es una buena herramienta para el control reproductivo de explotaciones de vacuno de carne durante el período invernal, si bien, habría que profundizar en las causas que pueden motivar la menor respuesta en vacas y en novillas de primer parto, como vía para proponer nuevas estrategias de mejora.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CEVA S.A. 2001. Controlar la reproducción es controlar el futuro.
2. García Paloma, J.A. y Villa, A. 2001. VII Congreso Internacional de Medicina Bovina: 233-235. Oviedo.
3. Martínez, M.F., et al. 2000. Canadian Vet. J. 41(10): 786-790.
4. Martínez, M.F., et al. 2002. J. Anim. Sci. 80: 1746-1751.
5. Peeler, I.D., et al. 2004. J. Dairy Sci. 87: 2868-2873.
6. Pérez Méndez, J.A. y Rodríguez, A. 2004. IX Congreso Internacional de Medicina Bovina:49-51. Gijón.
7. Small, J., et al. 2003. Canadian J. Anim. Sci. 83(4): 721-730.
8. Thompson K.E., et al. 1999. J. Anim. Sci. 77:1823-1832.
9. Yavas, Y. and Walton, J.S. 2000. Theriogenology 54(1): 25-55.

## NUEVO TRATAMIENTO DE INDUCCION Y SINCRONIZACION OVULATORIA QUE POSIBILITA LA CONCENTRACION DE PARIDERAS Y LA UTILIZACION PRACTICA DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN VACUNO RETINTO

Francisco Ignacio Hernández García, Ana María Risco Cruz.  
Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico, Junta de Extremadura

### INTRODUCCION

El vacuno Retinto es una raza cárnica rústica de tipo maternal adaptada a la escasez estacional de pasto de las dehesas del sudoeste español en las que se explota en régimen extensivo, presentando un temperamento bronco, que dificulta el manejo, y una marcada actitud protectora hacia el ternero. El intervalo entre partos es característicamente largo (con medias de 15,8 a 16,4 meses para rebaños selectos del Esquema de la Asociación de Criadores de Retinto de 1997), constituye una peculiaridad genotípica de la raza (López et al., 1988), y da lugar a prolongados periodos de cubrición y paridera que dificultan la sincronización entre la producción de terneros y la disponibilidad estacional de pastos. Aunque ello se puede remediar parcialmente con altos niveles de suplementación alimentaria, así se desaprovecharía la rusticidad de la raza y se favorecería su sustitución.

Además, la Retinta presenta una pobre respuesta a los tratamientos de inducción-sincronización de celos. Estudios anteriores de nuestro equipo (Hernández, 1996) caracterizaron esta respuesta y la actividad ovárica postparto, sugiriendo que los citados problemas reproductivos no se deben a mortalidad embrionaria sino a una marcada sensibilidad al efecto inhibitorio del ternero sobre la reanudación de la ciclicidad postparto.

El objetivo de este estudio es desarrollar un método hormonal de inducción y sincronización de celo para la vaca Retinta que posibilite la aplicación eficaz de la inseminación artificial y la reducción del intervalo entre partos, facilitando así la aplicación de los programas de mejora genética y la concentración de parideras.

### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 57 vacas Retintas en pastoreo extensivo, multiparas, con una condición corporal de  $4,4 \pm 0,009$  (media  $\pm$  ET; escala 1-9), amamantando a su ternero y con 50-182 ( $128 \pm 4,36$ ) días postparto (DPP) al entrar en cubrición; y 4 toros Retintos y otros 4 de otras razas. Los tratamientos experimentales, realizados de febrero a mayo, se llevaron a cabo en 7 Turnos sucesivos de manejo ( $\approx 8$  vacas/turno). Los Grupos (G) experimentales (Fig. 1) fueron: **G1** (Control): sin tratamiento hormonal. **G2** (PRID+estradiol): El día 0 se insertó una espiral intravaginal de progesterona (PRID) sin su cápsula de estradiol, se inyectó progesterona (200 mg en vehículo oleoso IM) y estradiol benzoato como luteolítico (10 mg IM para producir niveles altos durante 7 días; Vinckier et al., 1990). El día 10 se inyectaron 600 UI de eCG (PMSG; 2 días antes de lo habitual, para favorecer un mayor crecimiento folicular) y el día 12 se retiró el PRID. **G3** (PRID+prostaglandina): Como G2 excepto que no se usó el estradiol y el día 7 se inyectó cloprostamol como luteolítico (0,15 mg IM) a la vez que la eCG, retirándose el PRID el día 9. En G2 y G3, a las 48 horas de la retirada del PRID se inyectó un análogo de GnRH para facilitar la ovulación (buserelina, 10  $\mu$ g IM) y se llevó a cabo la monta sincronizada, permaneciendo las vacas con toros

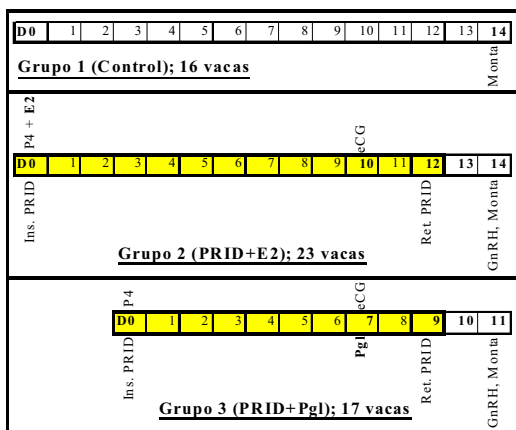


Figura 1. Grupos de Tratamiento. D:día. Ins.:inserción. Ret.:retirada. P4:progesterona. E2:estradiol benzoato. Pgl:prostaglandina.

Retintos durante 3 días. Durante los 65 días siguientes se permitió la “re-monta” con toros de otras razas de diferente capa para diferenciar la descendencia. La monta (libre) de las vacas de G1 comenzó el mismo día que la monta sincronizada de G2 y G3. El celo se evaluó mediante observación directa y almohadillas detectoras de monta en la grupa. Se realizaron ecografías transrectales (con sonda de 7,5 MHz) para determinar la ciclicidad previa, la gestación los días 31 y 61 PMS (post-monta sincronizada) y, en animales representativos de cada Grupo, la dinámica folicular desde el día 0 hasta el día 3 PMS (aunque aquí sólo se presentan datos foliculares de días clave). El destete se llevó a cabo a los 152-266 DPP.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El 75% (42/56) de las vacas ecografiadas al inicio del tratamiento presentaron cuerpo lúteo. El desarrollo folicular (Fig. 2) fue similar en G2 y G3 el día que se inyectó eCG y el día siguiente, pero al retirar el PRID tendió ( $p < 0,1$ ) a ser mayor en G3, aunque pasado otro día, y hasta el día de la monta sincronizada, ambos valores fueron similares. Este relativo retraso del desarrollo folicular de G2 podría deberse a la atresia que habría inducido el benzoato de estradiol (a causa de la persistencia de sus niveles plasmáticos de  $\approx 7$  días) hasta  $\approx 3$  días antes de la inyección de eCG, habiendo esta última hormona actuado sobre unos folículos menos maduros con respecto a G3. Así, la omisión del tratamiento inductor de atresia folicular podría explicar la menor fertilidad del celo de G3 ( $p < 0,05$ ; Fig. 3) mediante una posible persistencia folicular causante de la ovulación de ovocitos sobremaduros (Kinder et al., 1996). G2 superó a G3 en tasa de concepción al día 31 PMS ( $p < 0,05$ ; Fig. 3) con un 64%, valor equivalente a la eficacia de los métodos clásicos en las principales razas no autóctonas y que supone una posibilidad de mejora del manejo reproductivo de la Retinta, teniendo en cuenta que los métodos habituales raramente

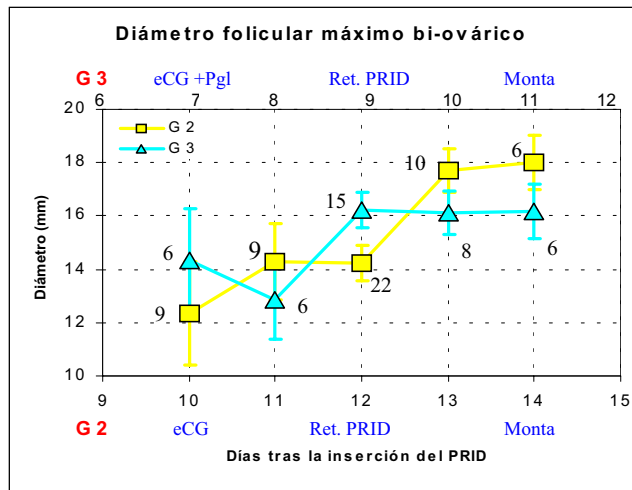


Figura 2. Medias ( $\pm$ ET) del mayor diámetro folicular entre ambos ovarios en los Grupos G2 y G3, con rótulos adyacentes indicadores del nº de vacas ecografiadas. Pgl: Prostaglandina. Ret.: Retirada.

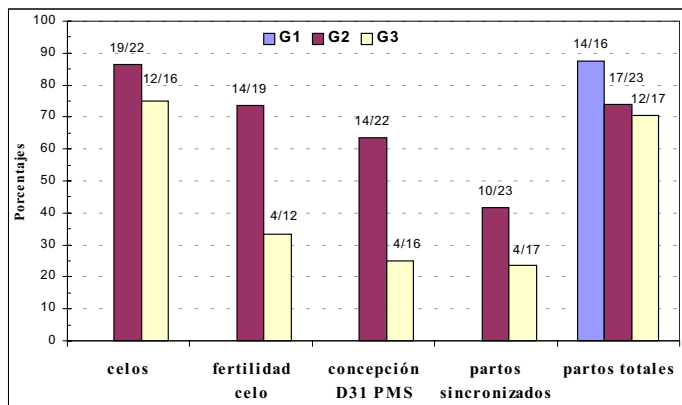


Figura 3. Tasas de celo y concepción. 1º Correspondientes a la monta sincronizada de los Grupos Tratados (G2 y G3). 2º Total de partos (incluidos los resultantes de la “re-monta”) de los 3 Grupos. D31 PMS: día 31 post-monta sincronizada (primer diagnóstico de gestación).

reproductivo de la Retinta, teniendo en cuenta que los métodos habituales raramente

superan el 30% de fertilidad en esta raza (ej.: Alonso et al., 1981; Jiménez et al., 1994). La tasa de partos sincronizados tendió a ser mayor en G2 que en G3 ( $p < 0,1$ ). El intervalo entre el inicio de la cubrición y la concepción (IC-C; Fig. 5) fue menor ( $p < 0,05$ ) en G2 que en el Grupo Control (G1), y el intervalo parto-concepción también fue menor en G2 que en G1 y G3 ( $p < 0,05$ ), consiguiéndose concepciones sincronizadas tan tempranas como el DPP 50. Los sucesivos Turnos de manejo constaron de vacas con cada vez menos días postparto y menor porcentaje de ciclicidad ovárica (Fig. 4), pero a pesar de ello los intervalos IC-C no aumentaron paralelamente, e incluso sus valores medios parecieron disminuir globalmente. Podría especularse que esta circunstancia se debe a factores estacionales (fotoperiodo, disponibilidad y calidad de pastos, etc.). En conclusión, el nuevo protocolo de G2 tuvo una eficacia aceptable en cuanto a potencial de inducción-sincronización de celos (incluso en postparto temprano) y de concentración de parideras, lo que podría contribuir a importantes mejoras en el manejo reproductivo y en la utilización de la inseminación artificial como herramienta de selección genética.

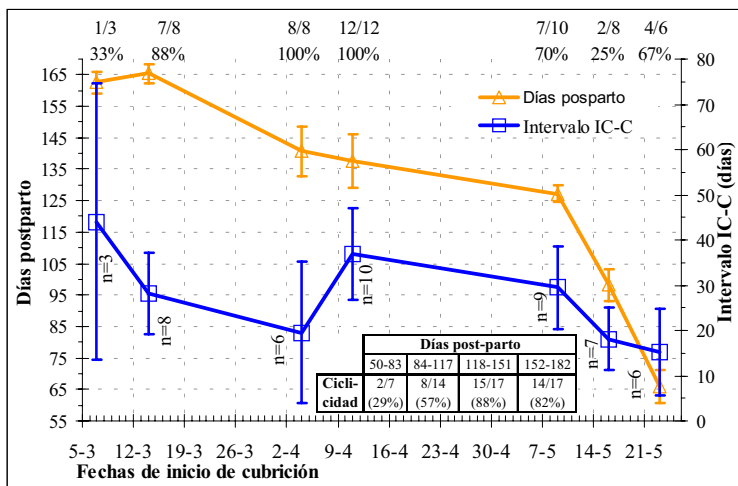


Figura 4. Días postparto (DPP) al inicio de cubrición en cada Turno de manejo e intervalos resultantes IC-C (inicio cubrición - concepción). (Medias  $\pm$  ET). Rótulos superiores: tasas y porcentajes de ciclicidad previa de cada Turno. Tabla adjunta: Ciclicidad previa correspondiente a los rangos de DPP del inicio de la cubrición.

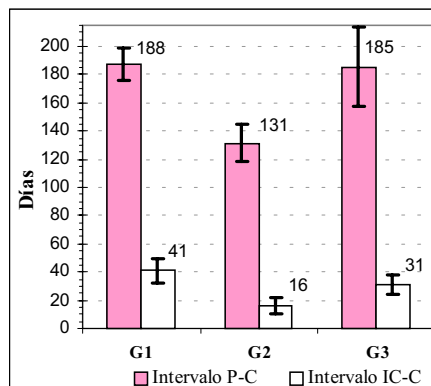


Figura 5. Intervalos parto/concepción (P-C) e inicio de cubrición/concepción (IC-C). Medias  $\pm$  error típico para cada tratamiento (G1, G2, G3).

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alonso de Miguel M, De la Fuente J, Vilas F. 1981. *A. Y. M. A.* 22:289-292.  
Hernández García, F.I. 1996. *PhD Dissertation*. Iowa State University, Ames.  
Jiménez Fernández JM, Salado de la Torre JM, Pérez Gómez JM. 1994. *VII Jornadas Internacionales de Reproducción Animal e Inseminación Artificial*. Murcia (Spain), julio 1994, Abstract, p 214.  
Kinder, J. E., Kojima, F. N., Bergfeld, E. G. M., Wehrman, M. E., Fike, K. E. 1996. *J. Anim. Sci.* 74: 1424-1440.  
López de Torre, G., García Barreto, L.J., Bernardo, J., Jiménez Carmona, J.M. 1988. *Proceedings. VI World Conf. on Animal Production*. Helsinki, p. 507.  
Vynckier L, Debackere M, Kruif A, Coryn M, De Kruif A. 1990. *J Vet Pharm Therap* 13(1):36-42.



## **LA RAZA OVINA TALAVERANA: ESTUDIO PRELIMINAR PARA SU CARACTERIZACIÓN REPRODUCTIVA**

J.J. Mateos<sup>1</sup>, A. Cerdeño<sup>1</sup>, A. Daza<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>C.I.A "Dehesón del Encinar" JCCM. <sup>2</sup>ETSIA Universidad Politécnica Madrid

### **INTRODUCCIÓN**

La importancia estratégica de la ganadería autóctona y, por extensión, de la raza ovina Talaverana, es clara y evidente en el panorama agropecuario actual. Los sistemas productivos empleados con las razas autóctonas se adaptan perfectamente a las actuales directrices de la Política Agraria Comunitaria (PAC). Además, los productos obtenidos de estas razas reúnen las características exigidas por el consumidor, quien en la actualidad demanda alimentos sanos, saludables, seguros, de calidad y trazabilidad certificada, producidos mediante sistemas lo más naturales posibles y que a la vez respeten el medio ambiente.

Por otra parte, la raza ovina Talaverana se encuentra catalogada oficialmente como de protección especial, contando con Asociación reconocida de Ganaderos (AGRATA). Queda encuadrada dentro del Tronco Entrefino como raza de triple aptitud (carne, leche y lana), siendo el resultado del cruzamiento de las razas Merina y Manchega. El área de origen y asentamiento es el suroeste de la provincia de Toledo y comarcas limítrofes de Cáceres y Ávila. Se trata de una raza de extraordinaria rusticidad, longeva, dotada de un gran instinto gregario, y con una aptitud maternal destacada. El presente estudio tiene como objetivo contribuir al estudio de sus caracteres reproductivos.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El estudio se ha realizado teniendo como base animal el rebaño ovino de 530 ovejas y 45 moruecos de raza Talaverana del Centro de Investigaciones Agropecuarias "Dehesón del Encinar" en Oropesa (Toledo), perteneciente a la Junta de Comunidades de Castilla La Mancha, considerado como rebaño de referencia para esta raza. El sistema de explotación es típicamente extensivo. El ritmo reproductivo es de un parto anual distribuido en dos épocas de parideras, una en primavera (teniendo lugar en los meses de marzo, abril o mayo, dependiendo del año) y otra en otoño (septiembre, octubre o noviembre). Para ello, se utiliza únicamente el efecto macho y periodos de cubrición de 35 días.

Se han controlado entre 1998 y 2004 un total de 2999 partos a lo largo de 13 parideras. De ellas, 7 tuvieron lugar en primavera y 6 en otoño, obteniéndose datos para el cálculo de índices reproductivos anuales y correspondientes a cada paridera (fertilidad, prolificidad, fecundidad, porcentaje de bajas y productividad).

Se efectuó un análisis de varianza en función de la época de paridera (primavera vs. otoño) para las variables prolificidad, fecundidad y productividad. La fertilidad y la mortalidad de corderos, al no ajustarse a una distribución normal, se estudiaron mediante la prueba de Chi-cuadrado. Los resultados se han expresado como media  $\pm$  desviación estándar. Todos los análisis se han realizado utilizando el paquete estadístico SAS (1999).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se muestran los resultados de los índices reproductivos anuales estudiados.

**Tabla 1.** Índices reproductivos anuales<sup>‡</sup>

AÑO	FERT. APARENTE	FERT. ANUAL	PROLIF. ANUAL	FECUND. ANUAL	% BAJAS	PRODUCTIV.
98	79,21	0,95	1,30	1,23	5,56	1,16
99	84,83	0,86	1,34	1,16	3,28	1,12
00	84,01	0,81	1,28	1,04	5,37	0,99
01	85,57	0,83	1,30	1,08	§	§
02	83,43	0,86	1,29	1,11	4,06	1,06
03	88,55	0,98	1,35	1,40	5,06	1,33
<b>Media</b>	<b>84,3</b>	<b>0,9</b>	<b>1,3</b>	<b>1,2</b>	<b>4,7</b>	<b>1,1</b>
sd	3,06	0,07	0,03	0,13	0,96	0,13

§ Se ha eliminado este dato al haberse producido un porcentaje de bajas atípico por numerosas muertes de corderos recién nacidos por ataques de zorros.

‡ Fertilidad aparente (nº de ovejas paridas / nº de ovejas puestas en cubrición x 100); Fertilidad anual (nº partos totales por oveja presente y año); Prolificidad anual (nº de corderos nacidos totales por parto y año); Fecundidad anual (nº de corderos nacidos por oveja presente y año); % bajas (nº corderos muertos desde nacimiento a venta o inicio de recría reposición / nº de corderos nacidos x 100); Productividad ([fertilidad anual x prolificidad anual x (100 - % bajas)] / 100)

En la Tabla 2 aparecen los resultados comparativos de estos índices en función de la época de paridera. Como puede observarse, los índices calculados resultan significativamente más favorables en la paridera de primavera, lo que resulta esperable para la especie ovina. No obstante cabe reseñar los buenos índices obtenidos en esta raza en las parideras de otoño, lo cual pone de manifiesto su buen comportamiento reproductivo.

**Tabla 2.** Índices reproductivos<sup>‡</sup> de las parideras de primavera vs. parideras de otoño

	PRIMAVERA	OTOÑO	Grado de significación
<b>FERTILIDAD</b>	89,2 ± 6,29	79,9 ± 5,14	**
<b>PROLIFICIDAD</b>	136,7 ± 9,03	126,9 ± 9,20	*
<b>FECUNDIDAD</b>	121,8 ± 10,25	101,4 ± 7,60	**
<b>% BAJAS</b>	4,9 ± 1,29	4,7 ± 0,97	n.s.
<b>PRODUCTIVIDAD</b>	1,16 ± 0,103	0,95 ± 0,066	**

n.s. (p>0,05); \* (p<0,05); \*\* (p<0,01)

‡ Fertilidad (nº de ovejas paridas / nº de ovejas puestas en cubrición x 100); Prolificidad (nº de corderos nacidos / nº de ovejas paridas x 100); Fecundidad (nº de corderos nacidos / nº de ovejas puestas en cubrición x 100); % bajas (nº corderos muertos desde nacimiento a venta o inicio de recría reposición/ nº de corderos nacidos x 100); Productividad ([fertilidad x prolificidad x (100 - % bajas)] / 100)

Según se aprecia en estos resultados comprobamos cómo esta raza ha fijado a lo largo de su proceso de constitución aquellos caracteres reproductivos más positivos de las razas que le dieron origen: escasa incidencia del anoestro estacional, rasgo típico de la raza Merina (González, 1988), y aceptable índice de prolificidad, superior a los descritos para la raza Merina y más próximo a los de la raza Manchega (Sánchez y Sánchez, 1987). La fertilidad media anual obtenida de 0,9 partos por oveja presente y año y la fecundidad media anual de 1,2 corderos nacidos / oveja presente y año que, en principio, pudieran parecer bajas, estimamos que están muy

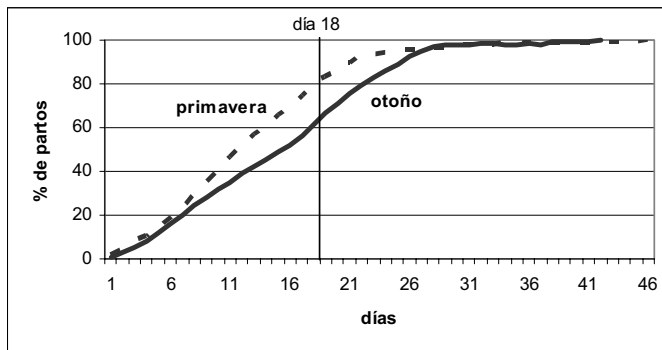
influenciadas por el ritmo reproductivo de 1 parto/año utilizado en el rebaño controlado. Las favorables características reproductivas observadas en esta raza permitirían incrementar sensiblemente estos índices con simples mejoras en el manejo reproductivo (diagnóstico de gestación para reciclar ovejas vacías) sin que se desvirtuasen los condicionantes propios de los sistemas extensivos.

La baja mortalidad anual de corderos obtenida (4,7 %) no sólo contribuye a confirmar la extraordinaria rusticidad y aptitud maternal de esta raza, sino que supone un indicio de otros posibles valores raciales añadidos como la resistencia genética a procesos patológicos perinatales, que debería confirmarse en futuros estudios.

La productividad media de 1,1 corderos producidos por oveja y año se puede considerar más que aceptable teniendo en cuenta el sistema de explotación y el ritmo reproductivo empleado. Las diferencias de productividad según época de partos se deben a la mayor fertilidad y prolificidad obtenida en las parideras de primavera.

En el Gráfico 1 se hace una representación comparativa donde se estudia la distribución de los partos a lo largo de los días de duración de cada paridera, analizando las medias del % de partos acumulados en las parideras de primavera y su comparación con las medias de las parideras de otoño. Se observa cómo al menos el 60% de los partos tienen lugar antes del día 18 desde el inicio de paridera tanto en primavera como en otoño.

**Gráfico 1.** Distribución de partos de primavera vs. otoño



Este hecho confirma que la mitad de las ovejas puestas en cubrición en primavera estarían cíclicas con actividad ovárica normal (ovulaciones y celos fértiles) antes de la entrada de los machos en el lote de cubrición y consecuentemente antes de producirse el primer pico de celos fértiles provocado por el efecto macho, con lo que el índice de desestacionalidad (porcentaje de ovejas cíclicas durante el periodo anestrual) de la ovejas de raza Talaverana controladas en el presente estudio estaría en torno al 60%, superando ampliamente los datos de índice de desestacionalidad del 20-40 % descrito en el caso de la oveja Merina (González López, 1988).

#### BIBLIOGRAFÍA

- GONZÁLEZ LÓPEZ, J.** 1988. "Reproducción en ganado merino. Avances en su control". Colección Medio Rural. Serie Ganadería 1. Junta de Extremadura.
- SÁNCHEZ BELDA, A. y SÁNCHEZ TRUJILLANO, M.C.** 1987. "Razas ovinas españolas". M.A.P.A.
- S.A.S.** 1999. User's guide statistics. S.A.S. Institute, Cary NC U.S.A.

## **EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON FSHo Y DE LA ESTACIÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE LA FOLICULOCENTESIS OVÁRICA EN CABRAS.**

J.L. Alabart, A. Roche, J.I. Martí, B. Aguilar, E. Echegoyen, J. Folch.

Unidad de Tecn. en Prod. Animal. CITA de Aragón. Apdo 727, 50080 Zaragoza.

### **INTRODUCCIÓN**

La obtención de oocitos inmaduros mediante aspiración de folículos ováricos en el animal vivo (ovum pick-up, OPU) es una técnica en auge por ser el punto de partida de diversas Biotecnologías de la reproducción: producción *in vitro* de embriones (PIV), inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), clonación, criopreservación de oocitos, etc. En los esquemas de selección de pequeños rumiantes se podrían producir más descendientes por hembra mediante OPU y PIV que con el método de superovulación y transferencia de embriones (MOET) debido a que pueden realizarse más intervenciones durante la vida del animal y con un intervalo menor entre ellas. Frente a la utilización de ovarios procedentes de matadero, una de las ventajas es que permite obtener oocitos de animales con un historial genético y sanitario conocido. Además, en caprino, la obtención de oocitos de ovarios de matadero es difícil en España, ya que se sacrifican pocas hembras y menos en estado adulto, y el rendimiento de PIV a partir de oocitos de chotas prepúberes es bastante bajo (Izquierdo *et al.*, 2002).

En este trabajo se pretende estudiar el efecto del tratamiento con hormona folículo-estimulante de origen ovino (FSHo) sobre los rendimientos de 4 sesiones de OPU a intervalos semanales tanto en época de estro como en anestro estacional.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 25 cabras mestizas, 13 cíclicas en época de estro (6 tratadas con FSH (FSH) y 7 controles (C)) y 12 no cíclicas en época de anestro (7 FSH y 5 C). Se consideraron cíclicas aquéllas con niveles de progesterona plasmática de al menos 1ng/ml en al menos una de 2 tomas separadas 7 días. La progesterona se midió mediante kits comerciales (Coat-A Count®, DPC, USA).

Las cabras se sincronizaron con esponjas vaginales (45mg FGA; Chronogest®, Intervet) durante 12 días y 125µg i.m. de Cloprostenol (Estrumate™, Schering-Plough Animal Health, Germany) 48h antes de su retirada. La 1ª sesión de OPU se realizó el día de la retirada de la esponja y las 3 siguientes a intervalos de 7 días. Las cabras tratadas con FSH recibieron un total de 4.4 mg de NIADDK-oFSH-17 (Ovagen™, ICPbio (UK) Ltd.) distribuidos en 2, 2 y 1ml i.m. 48, 36 y 24h antes de cada sesión, respectivamente.

La OPU se realizó por laparoscopia bajo anestesia general (500mg/20ml i.v. de Tiopental sódico / Halotano-O<sub>2</sub> por vía inhalatoria). Se practicaron 3 orificios en la parte más caudal del abdomen, uno sobre el lado izquierdo y dos sobre el derecho, separados 3cm de la línea alba, para introducir el endoscopio, el catéter-guía para la aguja, y una pinza de agarre atraumático para inmovilizar el ovario, respectivamente. El endoscopio se acopló a una cámara de vídeo en color, conectada a un monitor y grabador de vídeo.

Se aspiraron todos los folículos de diámetro igual o mayor a 1.5mm. Dichos folículos se clasificaron en pequeños (1.5-3mm), medianos (4-5mm), de 6-7mm, y mayores de 7mm.

Para la punción folicular se utilizó un Venofix® (Braun, Germany) al que se suprimieron las dos alas de plástico (aguja de 20mm de longitud, 0.65mm (23G) de diámetro externo y 0.45mm de diámetro interno, conectado a un tubo de silicona de 1.5mm de diámetro interno que se acortó a 24cm). Los 14cm próximos a la aguja se introdujeron en un tubo de plástico de 2.6mm de diámetro interno para proporcionarle rigidez. El otro extremo se conectó a un tubo Falcon® (Becton Dickinson, USA) de 15ml a través de un tapón de goma provisto de un segundo agujero de salida conectado a la bomba de aspiración (-25 a -30 mm Hg; 6-7ml/minuto; V-MAR 5100, COOK Ltd., Australia). El tubo de 15ml se mantuvo inmerso en agua destilada a 38°C dentro de otro Falcon® de 50ml. Antes de la punción folicular, se aspiró 1ml de medio TCM 199 con 0.04 mg/ml gentamicina, 10mM HEPES (SIGMA) y 0.1 mg/ml heparina (ROVI), a 38°C. Tras realizar la foliculocentesis, se irrigó el ovario con 30ml de suero fisiológico estéril heparinizado (25000 UI/l) a 38°C a través del catéter-guía para minimizar la aparición de adherencias. Al final de cada sesión de OPU se administró 1ml/10Kg PV de oxitetraciclina XL 300 (Solmycin™, Fort Dodge, Spain).

Los complejos oocito-cumulus (COC) se recuperaron del medio de colecta y se contaron bajo un estereomicroscopio. La calidad se evaluó atendiendo a la apariencia del cúmulus y homogeneidad del citoplasma (Stangl *et al.*, 1999; Lonergan *et al.*, 1994), clasificándose en 5 clases: I (oocito con el cúmulus completo), II (cúmulus incompleto), III (oocito rodeado por la corona radiata y 2-3 capas de células del cúmulus), IV (oocito desnudo) y V (cúmulus expandido). Las 3 primeras se consideraron aptas para PIV.

Los resultados por cabra y sesión se analizaron mediante ANOVA para medidas repetidas, mediante el procedimiento PROC MIXED del paquete estadístico SAS (SAS, 1999). Los porcentajes se analizaron mediante el procedimiento CATMOD del SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de folículos totales por cabra y sesión fue similar en estro y anestro, así como en los lotes FSH y C (Tabla 1), a diferencia de lo observado por Locatelli *et al.*, (2004) en esta misma especie. Dichos autores utilizaron el mismo protocolo pero aspiraban sólo los folículos mayores de 2mm.

La población folicular (distribución por tamaños) también fue similar en ambas estaciones, pero no en ambos lotes; así, el porcentaje de folículos pequeños (1.5-3mm) fue un 20.7% menor en el lote FSH ( $P < 0.0001$ ), mientras que los porcentajes de folículos medianos (4-5mm), de 6-7mm y de mayores de 7mm fueron un 11.6%, 7.2% y 1.9% mayores en dicho lote (cada uno,  $P < 0.0001$ ). Es decir, el tratamiento con FSH no incrementó el número total de folículos pero sí el tamaño folicular medio. Por ello, a pesar de que en ambos lotes se recuperó un número similar de oocitos totales por cabra y sesión (Tabla 1), su calidad fue mejor en el lote FSH. Así, el lote FSH superó al control en 3.1 oocitos aptos para PIV (Clases I+II+III) por cabra y sesión ( $P < 0.05$ ), debido a un incremento en dicho lote de un 14.6% en el porcentaje de oocitos de clase III ( $P < 0.0001$ ) en detrimento de los de clase IV (desnudos; disminución de un 27.1%;  $P < 0.0001$ ). Esta mejora de la calidad coincide con lo observado por Locatelli *et al.*, (2004).

No hubo efectos estadísticamente significativos de la estación sobre el número total de oocitos recuperados por cabra y sesión o sobre el de oocitos aptos para PIV.

En resumen, la aplicación semanal de FSH durante 4 sesiones consecutivas de OPU estimula el desarrollo folicular, aumentando el número de folículos medianos y grandes en detrimento de los pequeños, por lo que los oocitos presentan una mejor calidad morfológica, ya que incrementa el porcentaje de oocitos con tres capas de células del cumulus y reduce el porcentaje de oocitos desnudos.

Tabla 1. Población folicular y calidad oocitaria según lotes de tratamiento y época del año. FAT: Folículos aspirados totales; ORT: oocitos recuperados totales (datos por cabra y sesión; medias  $\pm$  error estándar de 4 sesiones a intervalos de 7 días).

	FSH (n=13)	Control (n=12)	Estro (n=13)	Anestro(n=12)
FAT	25.7 $\pm$ 2.7 <sup>a</sup>	25.6 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>	25.5 $\pm$ 2.7 <sup>a</sup>	25.9 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>
1.5-3 mm (%)	64.2 <sup>a</sup>	84.9 <sup>b</sup>	76.3 <sup>a</sup>	71.8 <sup>a</sup>
4-5 mm (%)	22.7 <sup>a</sup>	11.1 <sup>b</sup>	14.5 <sup>a</sup>	20.0 <sup>a</sup>
6-7 mm (%)	10.2 <sup>a</sup>	3.0 <sup>b</sup>	6.4 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>
> 7mm (%)	2.9 <sup>a</sup>	1.0 <sup>b</sup>	16.5 <sup>a</sup>	10.3 <sup>a</sup>
ORT	11.7 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	10.2 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	10.4 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	11.5 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>
Clases (I+II+III)	9.8 $\pm$ 1.1 <sup>c</sup>	6.7 $\pm$ 1.1 <sup>d</sup>	7.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>	8.6 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup>
Clase III (%)	61.4 <sup>a</sup>	46.8 <sup>b</sup>	56.0 <sup>a</sup>	53.9 <sup>a</sup>
Desnudos (%)	10.5 <sup>a</sup>	37.6 <sup>b</sup>	23.1 <sup>a</sup>	18.5 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup>: P < 0.001; <sup>c, d</sup>: P < 0.05, entre lotes o entre estaciones.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Izquierdo D, Villamediana P, Lopez-Bejar M, Paramio MT. (2002). Effect of in vitro and in vivo culture on embryo development from prepubertal goat IVM-IVF oocytes. *Theriogenology* 57: 1431-1441
- Locatelli Y, Poulin N, Baril G, Touzé JL, Bouttier A, Cognié Y, Mermillod P. (2004). FSH treatment before laparoscopic ovum pick-up in goat influences quantity and quality of recovered oocytes. *Reprod Fertil Develop* 16 (4): 513
- Loneragan P, Monaghan P, Rizos D, Boland MP, Gordon I. (1994). Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. *Mol Reprod Dev* 37 (1): 49-53
- SAS (1999). SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc®, Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Stangl M, Kuhholzer B, Besenfelder U, Brem G. (1999). Repeated endoscopic ovum pick-up in sheep. *Theriogenology*. 52: 709-716

Trabajo cofinanciado por FEDER-INIA (proyectos RZ00-012-C2 y RZ01-023-C2) y Gobierno de Aragón (beca predoctoral).

## **EFFECTO DE LA OXITOCINA SOBRE LA PROFUNDIDAD DE DEPOSICIÓN DEL SEMEN EN LA CABRA MURCIANO-GRANADINA**

MP Viudes-de-Castro, I Salvador, MA Silvestre, F Marco-Jiménez, J Bernacer, EA Gómez

Centro de Investigación y Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra de Náquera-Moncada km 3,2, 46113 Moncada, Valencia  
mpviudes@ivia.es

### **INTRODUCCIÓN**

La introducción de la inseminación artificial en caprino puede beneficiar enormemente los esquemas de mejora genética, permitiendo evaluar a los animales con genes favorables en los rebaños, contribuyendo así a diseminar animales genéticamente superiores de manera más eficiente. No obstante, el uso de esta técnica reproductiva en la raza caprina Murciano-Granadina (MG), raza con la mayor representación en el censo caprino español, es bastante escasa.

La anatomía del cérvix de la cabra hace que, con frecuencia, el catéter de inseminación no pueda atravesarlo, incluso estando la cabra en celo, de ahí que la profundidad a la que se deposita el semen mediante inseminación artificial condicione enormemente los resultados de fertilidad (Ritar y Salamon; 1983). Cuando la deposición del semen se lleva a cabo al final del cérvix o justo a la entrada del útero, los valores de fertilidad pueden ser de un 15 a un 20% superiores a los que se obtienen cuando la deposición del semen se lleva a cabo en la vagina (Ritar et al; 1990). Por otra parte, la fertilidad obtenida con semen congelado es menor que con semen fresco o refrigerado (Roca et al; 1997; Leboeuf et al; 2000).

Varios trabajos han demostrado que el uso de la oxitocina en ovino induce la dilatación cervical y permite el paso del catéter de inseminación al interior del útero (Khalifa et al; 1992, Sayre y Lewis; 1997) sin afectar a la fertilidad de la inseminación (Stellflug et al; 2001).

En la cabra Murciano-Granadina, el catéter de inseminación sólo puede atravesar el cérvix en el 17,5% de los casos (Salvador et al, 2005). Se ha observado que la deposición del semen en el interior del útero o en la zona profunda del cérvix (3 a 4 cm de profundidad) incrementa la tasa de fertilidad con semen congelado en esta especie (Salvador et al; 2005).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de un tratamiento con oxitocina exógena sobre la profundidad de inseminación, utilizando la técnica clásica de inseminación vía vagina.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

El experimento fue llevado a cabo en la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia. Se inseminaron un total de 55 cabras de raza Murciano-Granadina. Los animales se distribuyeron aleatoriamente en dos

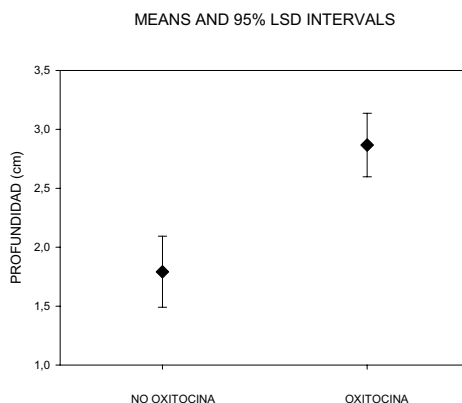
lotes: lote 1 (con oxitocina) y lote 0 (control, sin oxitocina). En ambos lotes las hembras recibieron una inyección i.v. de 2,5 ml unos 20 minutos antes de la inseminación, en el lote 1 las hembras fueron tratadas con 50 UI de oxitocina, mientras que en el lote 0 las hembras fueron tratadas únicamente con suero salino. Las hembras fueron sincronizadas con esponjas intravaginales (40 mg de acetato de fluorogestona) durante 11 días y recibieron una inyección intramuscular de 300 U.I. de eCG y 0,5 ml de Enzaprost (Ceva) 48 horas antes de la retirada de la esponja. Las cabras fueron inseminadas vía vaginal a las 46 horas tras la retirada de la esponja, utilizando un espéculo con luz y un catéter de inseminación de ovino-caprino. Para determinar la profundidad de deposición del semen se emplearon catéteres que presentaban una escala con marcas de 1 a 4 cm, estableciéndose la zona de deposición del semen en función de dicha escala. Cuando el catéter de inseminación atravesaba el cérvix se consideraba deposición post-cervical (4 cm de profundidad), cuando el catéter penetraba en el cérvix 1, 2 ó 3 cm se consideraba como deposición intracervical y cuando el catéter no podía penetrar en el cérvix y el semen era depositado en el fondo de la vagina se consideró deposición vaginal (0 cm de profundidad).

El efecto de la oxitocina en la profundidad de deposición del semen fue analizado mediante un ANOVA.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en este experimento muestran que la aplicación de oxitocina facilita la penetración cervical, encontrándose diferencias significativas entre los lotes ( $p < 0.05$ , figura 1).

Figura 1: Medias mínimo cuadráticas del efecto de la oxitocina sobre la profundidad de deposición de semen.

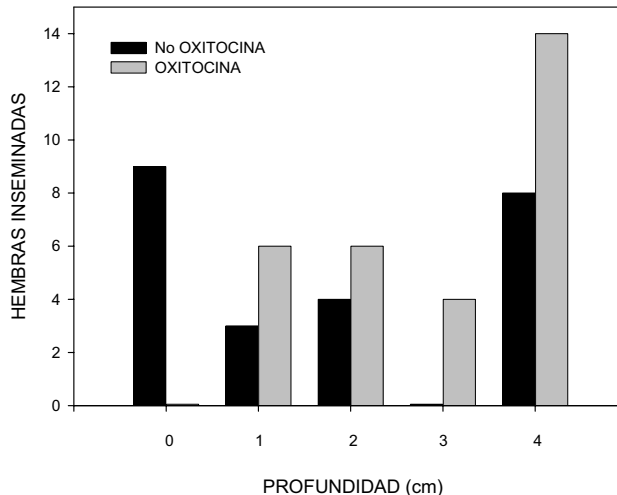


En el lote 1 (oxitocina), no tuvo lugar ninguna inseminación vaginal (penetración 0 cm) ya que en todos los casos se pudo introducir el catéter al menos 1 cm (0% vs 16% para los lotes 0 y 1, respectivamente), mientras que el



número de inseminaciones post-cervicales fue muy superior (14% vs 25%, para los lotes 0 y 1, respectivamente) tal y como muestra la figura 2.

Figura 2: Efecto de la oxitocina en la profundidad de deposición del semen.



La zona de deposición del semen es uno de los factores que más condicionan la fertilidad de la hembra, siendo determinante cuando se utiliza el semen congelado (Ritar y Salamon, 1983; Salvador et al, 2005). Por lo que el empleo de la oxitocina como complemento de la inseminación artificial con semen congelado en cabras MG podría suponer una mejora de la fertilidad. Por ello, sería necesario en trabajos posteriores ver su efecto directo sobre la fertilidad.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA RTA03-100.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KHALIFA R.M.E., SAYRE B.L., LEWIS G.S. 1992. *J. Anim. Sci.* 70: 38-42.
- LEBOEUF, B., RESTALL B., SALAMON S. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 62:113-141.
- RITAR A. J., BALL P.D., O'MAY P.J. 1990. *Reprod. Fertil. Dev.* 2:377-384.
- RITAR, A. J., SALAMON S. 1983. *Aust. J. Biol. Sci.* 36:49-59.
- ROCA, J., J. A. CARRIZOSA, I. CAMPOS, A. LAFUENTE, J. M. VÁZQUEZ, AND E. MARTÍNEZ. 1997. *Small Rum. Res.* 25:147-153.
- SALVADOR I., SILVESTRE M.A., VIUDES-DE-CASTRO M.P., BERNACER J., GÓMEZ E.A. 2005. *J. Anim. Sci.* (remitido)
- SAYRE B.L., LEWIS G.S. 1997. *Theriogenology* 48: 267-275.
- STELLFLUG J.N., WULSTER-RADCLIFFE M.C., HENSLEY E.L., COWARDIN E.A., SEALS R.C., LEWIS G.S. 2001, *J. Anim. Sci.* 79: 569-573.

## **INFLUENCIA DE LA INHIBICIÓN DE LA SECRECIÓN DE LA PROLACTINA SOBRE EL DESARROLLO DEL CUERNO Y LA ACTIVIDAD TESTICULAR EN EL MUFLÓN**

A. Toledano-Díaz, J. Santiago-Moreno, A. Gómez-Brunet, A. Lopez-Sebastián.

Dpto. Reproducción Animal, SGIT-INIA, Avda. Puerta de Hierro, Km 5,9. Madrid 28040 España

### **INTRODUCCIÓN**

EL muflón, al igual que otras especies de rumiantes silvestres, presenta grandes cuernos que les dotan de capacidad para las luchas durante el periodo de actividad reproductiva (Singer and Zeigenfuss, 2002). La supremacía de los machos con mejor cornamenta representa una forma de selección natural, en la que sólo los mejores dotados participarán activamente de las cubriciones de las hembras.

El cuerno en el muflón es una estructura perenne (cavicornio) con crecimiento a lo largo de toda la vida (Lincoln, 1998). Dicho crecimiento es mayor durante los primeros años de vida, ralentizándose según se incrementa la edad (Piegiert and Uloth, 2000). Además, el crecimiento del cuerno presenta un perfil estacional, que evoluciona con el fotoperiodo (Lincoln, 1990), aconteciendo el máximo crecimiento durante la primavera y verano, y el mínimo durante el periodo de actividad sexual (otoño-invierno) (Lincoln, 1998).

De forma similar a lo descrito en cérvidos (Sempéré et al., 1992), se ha sugerido en el muflón un posible control del crecimiento del cuerno por diversas hormonas con características estacionales de su secreción, tales como la prolactina (PRL) (Lincoln, 1990). De este modo, en muflones adultos (> 3 años de edad), se ha establecido una correlación entre el mayor crecimiento del cuerno en primavera con el incremento de los niveles plasmáticos de PRL en esa época, así como la disminución del crecimiento en el otoño con la disminución de los niveles de secreción de PRL. Sin embargo, esta evolución no ha sido tan manifiesta en muflones clasificados, en función de su edad, como sub-adultos (1-2 años) (Santiago-Moreno et al., 2005)

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de la disminución de las concentraciones plasmáticas de PRL, producida mediante un antagonista (Bromocriptina, BCR), sobre el crecimiento del cuerno y la actividad testicular durante la primavera y verano en muflones sub-adultos.

### **MATERIAL Y METODOS**

El estudio se realizó con 7 muflones sub-adultos (1-2 años de edad) nacidos en cautividad en las instalaciones del Dpto. Reproducción Animal del INIA (40° 25' de latitud). Los animales recibían una alimentación equilibrada a base de concentrado, cereales, paja y alfalfa, con un soporte de sales y vitaminas en bloques de libre acceso. Todos los animales estaban perfectamente adaptados al manejo rutinario de recogida de muestras.

Los muflones fueron divididos al azar en dos grupos. Un grupo control (n = 3) y un grupo tratado (n = 4) con 10 mg (i.m.) de BCR (Parlodol®) dos veces por semana, durante el periodo experimental (marzo-agosto). Cada grupo se ubicó en dos parques contiguos de 250 m<sup>2</sup> en condiciones de fotoperiodo

natural. Quincenalmente se recogieron tres muestras de sangre (10:00H, 11:00H, 12:00H) de la vena yugular, en tubos heparinizados, que eran inmediatamente centrifugadas durante 15 minutos a 3.500 r.p.m. El plasma era separado y se realizaba un pool de alícuotas de 1 ml de las tres muestras, el cual se congelaba a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de los análisis. Las concentraciones plasmáticas de PRL y testosterona fueron determinadas mediante radioinmunoanálisis.

Con una periodicidad quincenal, y mediante una cinta métrica, se medían la longitud del cuerno, desde su base hasta una marca realizada al inicio de la experiencia mediante un corte en la superficie del cuerno, la circunferencia de la base del cuerno y la circunferencia escrotal.

El crecimiento del cuerno fue calculado por la diferencia de la media de la longitud y de la media de la circunferencia del mes, menos la media del mes anterior. Los datos han sido analizados mediante ANOVA de una vía, con el paquete estadístico Statistica Soft. Inc. Los resultados vienen expresados en media  $\pm$  error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran como la administración de BRC inhibe ( $p < 0,001$ ) el incremento de la secreción de PRL durante primavera (figura 2). Así, el grupo control presenta unos valores desde  $72,68 \pm 10,18$  ng/ml en abril, que se incrementan hasta  $257,86 \pm 19,41$  ng/ml en el mes de junio. En el grupo tratado, los valores se mantienen basales, oscilando de  $24,87 \pm 12,13$  ng/ml a  $7,75 \pm 4,09$  ng/ml.

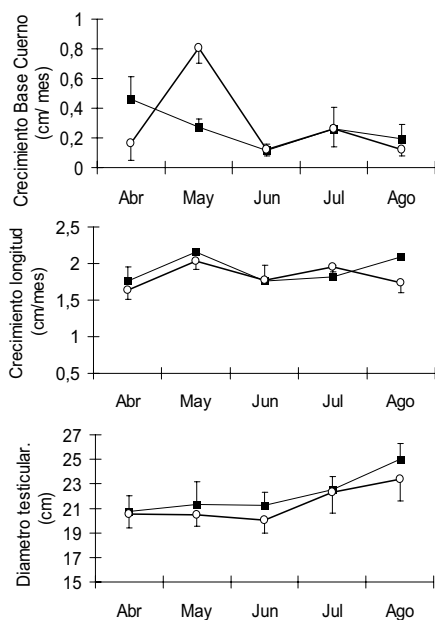


Figura 1 Crecimiento del cuerno: a) Base b) Longitud y Diámetro testicular, c). (■) G. Control (○) G. Tratados.

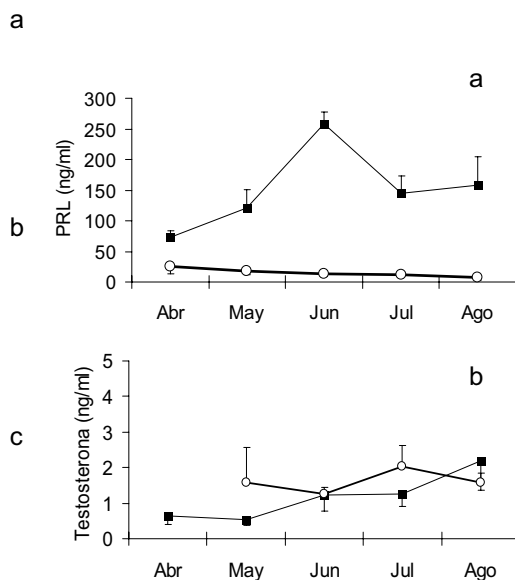


Figura 2. Concentraciones plasmáticas de a) PRL y b) Testosterona. Media de ng/ml por mes. (■) G. Control (○) G. Tratados.

El incremento máximo mensual de la circunferencia de la base del cuerno fue  $0,46\pm 0,15$  cm para el grupo control en el mes de Abril y  $0,8\pm 0,1$  cm para el grupo tratado en Mayo. El crecimiento máximo de la longitud del cuerno se apreció en el mes de mayo, en ambos grupos,  $2,15\pm 0,03$  y  $2,03\pm 0,24$  respectivamente (figura 1). No hubo diferencias significativas entre grupos en el crecimiento del cuerno.

La circunferencia escrotal (figura 1) se mantuvo constante durante los tres primeros meses, 20 cm de diámetro en ambos grupos, seguido de un leve incremento en julio y agosto (25 cm de máximo). Las concentraciones plasmáticas de testosterona (figura 2) se mantuvieron a niveles basales en ambos grupos, sugiriendo que no parece existir una influencia de las variaciones estacionales de PRL sobre la actividad testicular. Aunque otros estudios muestran una clara relación entre el tamaño testicular y la concentración de testosterona en sangre (Lincoln et al., 1990), el corto periodo de experimentación no ha permitido observar correlaciones entre la circunferencia escrotal y los niveles de testosterona.

En conclusión, si bien se ha sugerido que, en muflones adultos, el incremento de los niveles de secreción de PRL en primavera estimularía el crecimiento del cuerno en este periodo (Lincoln, 1990; Santiago-Moreno et al., 2005), los resultados del presente experimento apuntan que, en los muflones sub-adultos, el crecimiento del cuerno no parece estar mediado por el incremento de las concentraciones plasmáticas de PRL que se producen en primavera.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lincoln G.A. 1990 J. Reprod. Fétil. 90: 285-296.
- Lincoln G.A. 1998 Anim. Reprod. Sci. 53: 87-105
- Lincoln G.A., Lincoln C.E., McNeilly A.S., 1990 J. Reprod. Fertil. 88: 623-633.
- Piegert H., Uloth W., 2000. Der Europäische Mufflon. Naturelife. DSV-Verleg, Hamburg, 285 pp.
- Santiago-Moreno J., Gómez-Brunet A., Toledano-Díaz A., González-Bulnes A., Pícazo R.A., López-Sebastián A. 2005 Anim. Reprod. Sci. 85: 251-261.
- Sempéré A.J., Mauget R., Bubenik G.A., 1992 J. Reprod. Fertil. 95: 639-700.
- Singer, F.J. Zeigenfuss, L.C., 2002. J. Mammal. 83: 682-698.

## **EFFECTO DE LA EDAD DE LA CONEJA, NÚMERO DE CUBRICIÓN Y ÉPOCA DE CUBRICIÓN SOBRE LA RECUPERACIÓN DE EMBRIONES EN RAZA GIGANTE DE ESPAÑA**

M. López, F. Forcada

Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Unidad de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza

### **INTRODUCCIÓN**

La recuperación de embriones y su posterior crío-conservación son procedimientos ampliamente aceptados para la preservación de genes y se utilizan en todas las especies. En los conejos se aplican en los muy escasos programas de conservación vigentes, así como para facilitar la transmisión de material genético entre países reduciendo los riesgos de transmisión de enfermedades. En esta especie han permitido con éxito preservar distintas generaciones durante el proceso de selección y evaluar los cambios consecuentes al mismo (García et al., 2000; Vicente et al., 2003).

La recuperación de embriones en la raza Gigante de España la iniciamos en 1992 utilizando laparotomía (López et al., 1993), método innovador en la especie cunícola pues habitualmente los embriones se recolectan tras el sacrificio de las conejas aduciendo razones económicas. Pero en una raza en peligro de extinción seguramente es más razonable aplicar cirugía, porque la coneja puede volver a ser donadora en otras ocasiones y, en el caso de la raza Gigante de España, con resultados satisfactorios (Forcada y López, 2000).

En el presente trabajo se analizan los efectos del número de cubrición, época de la misma y edad de la coneja al inicio de su carrera como donadora sobre las tasas de ovulación y embrionaria en la raza citada.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 43 conejas Gigante de España, la mitad de las cuales eran adultas multíparas y la otra mitad eran nulíparas de 6-7 meses de edad. Tras el salto con machos de su misma raza, se indujo la ovulación con 20 µg de acetato de buserelina (GnRH) vía intramuscular y 68-69 h después se recogieron los embriones mediante laparotomía. La anestesia se consiguió administrando una inyección intramuscular de 0,2 ml de xilacina al 2%, seguida a los 15 minutos de una inyección de pentotal sódico (20 mg/ml) en la vena marginal de la oreja. Asimismo se administraron 10 mg de clorhidrato de lidocaína vía subcutánea para lograr anestesia local en la región ventral.

Tras perfundir cada uno de los oviductos a nivel de la unión útero-tubárica, los embriones se recogieron en una placa arrastrándolos con una solución de PBS suplementado con antibióticos y sodio-piruvato 0,3 mM previamente calentada a 38°C en baño maría. Los embriones se clasificaron en función de su estado de desarrollo, aspecto morfológico y calidad.

Paralelamente, en la coneja se contaban los cuerpos lúteos presentes en los ovarios, el tracto reproductor se lavaba con una solución de suero con heparina y, tras la sutura, se aplicaba una inyección subcutánea de oxitetraciclina así como suero fisiológico a 38°C también vía subcutánea para mejorar la recuperación.

Después de cada intervención las conejas descansaban al menos 50 días y volvían a ser utilizadas como donadoras si se encontraban en buenas condiciones fisiológicas, pues sabemos que no hay diferencias en la tasa embrionaria de las conejas Gigante de España en las tres primeras recuperaciones (Forcada y López, 2000). El número total de recuperaciones fue de 92.

Se han calculado las variables descriptivas y, mediante análisis de varianza (GLM), se han estudiado los efectos de la edad de la coneja, número de salto, fecha del salto y sus interacciones (SSPS-12) sobre las tasas de ovulación y embrionaria. El test de Duncan se ha utilizado para comparar las diferencias entre medias.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos en el curso de la experiencia. En ella observamos que tanto la tasa de ovulación como, principalmente, el número medio de embriones (7,93 y 5,38, respectivamente) fueron inferiores a los obtenidos en trabajos previos sobre esta raza con similares pautas de trabajo (8,6 y 7,0, respectivamente) (Forcada y López, 2000).

Las razones para estas diferencias no son conocidas. No obstante, el aspecto más alejado entre los trabajos citados y el actual es la raza de machos (padres de los embriones), ya que en las anteriores experiencias el objetivo era poner a punto las técnicas de recuperación, críopreservación y transferencia, y se utilizaban machos Neozelandeses para facilitar el manejo en granja. En el presente trabajo tanto machos como hembras eran Gigante de España, pues el objetivo era constituir un banco de embriones que ayude a la conservación de la raza. El efecto del macho no puede explicar la reducción encontrada en la tasa de ovulación, pero no sabemos si podría actuar sobre la viabilidad embrionaria durante las 68 horas de gestación previas a la recuperación, y condicionar así la tasa final de embriones.

**Tabla 1.** Tasa de ovulación y número de embriones obtenidos en conejas de raza Gigante de España

Nº de recuperaciones con ovulación en uno de los dos ovarios	92
Tasa de ovulación	7,93 $\pm$ 0,21
Nº de recuperaciones de las que se han recogido embriones	81 (88,04%)
Nº de embriones recogidos por recuperación	5,38 $\pm$ 0,32
Porcentaje respecto a la tasa de ovulación	67,84
Nº de embriones viables por recuperación	4,76 $\pm$ 0,35
Porcentaje respecto a la tasa de ovulación	60,02

Dieciocho de las conejas experimentales se utilizaron como donadoras solamente en una ocasión y las restantes hembras proporcionaron al menos dos recuperaciones, pero no hubo efecto del número de recuperación (cubrición) sobre las tasas de

ovulación y embrionaria. Tampoco la época de cubrición (primavera, verano, otoño e invierno) afectó significativamente a esas variables.

Por el contrario, la edad de la coneja al inicio de su carrera como donadora influyó sobre el número de embriones (Tabla 2), de modo que las conejas que se incorporaron a la experiencia con 1-2 años obtuvieron la tasa embrionaria inferior. Este grupo estaba constituido por un pequeño lote de hembras que finalizaban su vida como reproductoras así como algunas hembras nulíparas que por diferentes motivos retrasaron su entrada en reproducción, siendo estas últimas las que dieron peores resultados pues presentaron una elevada tasa de ovulación pero escaso número de embriones. Las hembras de mayor edad, por el contrario, parece que pueden ser fuente adecuada de embriones en una o varias ocasiones antes de acabar su vida reproductiva, contribuyendo así a mejorar la dotación del banco de embriones Gigante de España.

**Tabla 2.** Efecto de la edad de inicio de las recuperaciones sobre la tasa de ovulación y número de embriones

Edad	Nº cuerpos lúteos ( $\bar{x}\pm\text{et}$ )	Nº embriones ( $\bar{x}\pm\text{et}$ )
<1	7,85±0,25	5,81±0,38
1-2	8,50±0,67	4,44±0,78
>2	7,89±0,39	5,03±0,62
F	NS	*

\* P<0,05

Por último, el porcentaje de embriones viables fue de 74%, valor similar al obtenido en líneas de conejos especializadas (Vicente et al., 2003). Los embriones considerados no viables fueron los no fertilizados (13%), con forma no esférica (7%) y los no desarrollados o degenerados (5%).

## AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el proyecto I.N.I.A. RZ01-005-C2-1

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forcada, F., López, M., 2000. Repeated surgical embryo recovery and embryo production in rabbits. *Anim. Reprod. Sci.*, 64, 121-126
- García, M.L., Baselga, M., Viudes-de-Castro, M.P., Vicente, J.S., 2000. Reconstitución de una línea de conejos a partir de embriones crioconservados. *Arch. Zootec.*, 49, 81-86
- López, M., Forcada, F., Rodríguez, J.A., Martín, M., Zarazaga, L., 1993. Embryo recovery under anaesthesia alter hCG or GnRH treatments in the rabbit and survival when a reduced number of embryos is transferred. *World Rabbit Science*, 1 (4), 127-132
- Vicente, J.S., Viudes-de-Castro, M.P., García, M.L., Baselga, M., 2003. Effect of rabbit line on a program of cryopreserved embryos by vitrification. *Reprod. Nutr. Dev.*, 43, 137-143

## **EFFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO SOBRE LAS CURVAS DE LACTACIÓN EN CONEJAS MULTÍPARAS**

Rebollar P.G., Burgos I., Lorenzo P.L. \*

*\*Departamento de Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.  
Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid  
Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.*

### **INTRODUCCIÓN**

En grandes conejares se requiere de un control previo del celo de las hembras para asegurar buenos resultados de fertilidad y prolificidad. Hasta el momento la práctica habitual era el empleo de gonadotropinas exógenas (PMSG y prostaglandinas), pero en los últimos años, se están buscando tratamientos alternativos. El destete transitorio de las conejas antes de la inseminación permite obtener buenos resultados de fertilidad, evitando los posibles residuos de los tratamientos hormonales en la canal o el elevado coste económico de su aplicación. En este trabajo se ha estudiado el efecto de la aplicación de estos métodos en sistemas intensivos de producción sobre la producción de leche y consumo de las conejas.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se emplearon 64 conejas multíparas lactantes (entre 3 y 5 partos) y que habían parido entre 8 y 10 gazapos. Todas las conejas se inseminaron el día 4 postparto utilizando un pool heterospérmico de semen fresco e induciéndoles la ovulación con 20 µg de gonadorelina. Los animales se alojaron individualmente con ambiente controlado (18-22°C, 45% humedad relativa) y un fotoperiodo de 16 h luz-8 h oscuridad. El agua y la comida (16.2% proteína, 2.5% grasa y 13.5% fibra cruda) fueron administradas *ad libitum*. Para la sincronización del estro las conejas se distribuyeron en 4 grupos: grupo Bio48 y grupo Bio24, que permanecieron separadas de sus camadas 48 y 24 horas antes de la inseminación artificial (IA), respectivamente, grupo PMSG tratadas con 25 UI de esta gonadotropina 48 horas antes de la IA y un grupo control. La producción de leche se estimó diariamente por diferencia entre el peso de la coneja antes y después de amamantar a sus crías, desde el día 1 hasta el día 21 de lactación, excepto en los días en los que se separaba a la madre de la camada. El consumo de pienso de las conejas se pesó diariamente.

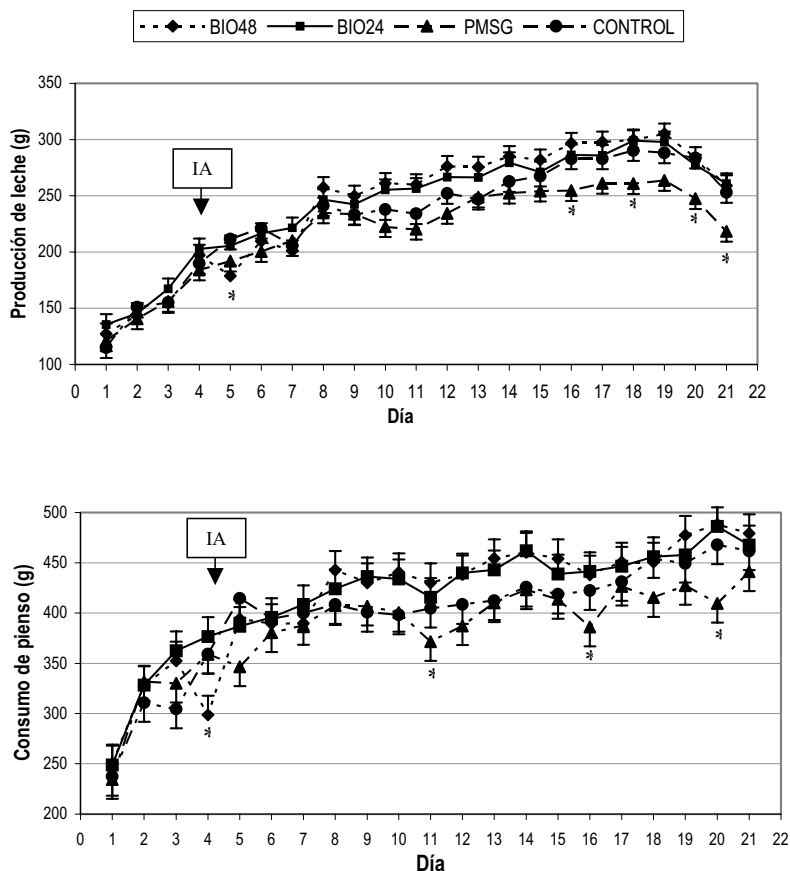
Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza utilizando el procedimiento MIXED (SAS, 1999), con modelo autoregresivo para el análisis de medidas repetidas. El modelo incluyó como principal fuente de variación el tratamiento o el día de lactación así como su interacción en ambos casos.

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La evolución de las curvas de lactación y consumo de alimento de las conejas se muestran en la Figura 1. El día posterior a la finalización del destete transitorio (día 5), la producción lechera de las conejas del grupo BIO48 sufre un descenso del 15% respecto a las del grupo CONTROL y BIO24 ( $P < 0.05$ ). En días posteriores, la producción se equipara entre los grupos, pero a partir del día 10 de lactación las conejas bioestimuladas produjeron cantidades superiores de leche a las CONTROL y PMSG (un 12% de media más hasta el día 21;  $P < 0,05$ ). El día de menor producción del grupo PMSG fue el día 21 de lactación (que coincidía con el día 17 de gestación), con un 15,5% de diferencia con respecto a la media de los demás grupos ( $P < 0.01$ ). La causa de este descenso podría explicarse por la elevada tasa



de ovulación y aumento del número de embriones que la inyección de esta gonadotropina puede producir, demandando mayor cantidad de nutrientes, e incidiendo en su producción lechera. Aunque en condiciones de gestación y lactación simultáneas existe un claro detrimento en el crecimiento y supervivencia de los fetos y no en la lactación (Fortun-Lamothe *et al.*, 1999), no está determinado si en el caso de la sincronización con PMSG, puede que sean los fetos los que desvíen mayores reservas en su provecho. Theau-Clément y Lebas (1996) hallan una reducción significativa en el peso al destete de las camadas de madres tratadas con PMSG que se podría explicar precisamente por una bajada de la capacidad productora de las conejas.



Figuras 1 y 2. Curvas de producción de leche y consumo de pienso de conejas sometidas a diferentes tratamientos de sincronización de celo e inseminadas el día 4 post-parto. (\*:  $p < 0.05$ ; ver texto)

El día 4, el consumo de las conejas del grupo BIO48 descendió en torno a un 21% respecto a los demás grupos. Este descenso puede deberse a la ausencia de amamantamiento los 2 días anteriores, provocando un estado de malestar o disconfort en la coneja. A pesar de que según Hluchy *et al.* (1995) los alveolos

mamarios de la coneja poseen gran elasticidad y permiten almacenar leche cada vez más concentrada por espacio de 48 horas, es posible pensar que cuanto mayor cantidad quede retenida, mayor será la presión intramamaria como ocurre de forma análoga en otras especies (Davis *et al.*, 1999). En cambio, el consumo de estas conejas en el día 5, cuando ya han dado de mamar, se iguala al de las conejas del otro grupo bioestimulado, y es mayor que el del grupo PMSG, que a partir de entonces es el que ingiere menor cantidad de alimento, explicando en cierta medida la menor producción de leche que previamente se ha descrito.

De manera global, no se encontraron diferencias en la producción total de leche ni en el consumo de alimento de las conejas sometidas a un destete transitorio de la camada con respecto a los grupos que no sufrieron separación alguna (Tabla 1). Dado que las conejas tenían tamaños de camada similares, estos resultados a priori están en consonancia con Fuchs *et al.* (1984), según los cuales el número de gazapos influye cuantitativamente en la secreción de prolactina, una de las hormonas directamente involucrada en la lactogénesis y la lactopoyesis, o lo que es lo mismo, en la producción de leche de la coneja en todo el periodo.

Tabla 1. Efecto del tipo de sincronización de celo en conejas sobre la producción global de leche y el consumo total de pienso del día 1 al 21 de lactación. EEM: error estándar de las medias (n=16).

	Tratamientos				EEM	P
	BIO48	BIO24	PMSG	CONTROL		
<b>Producción de leche (g)</b>	4916	5087	4611	4907	149,2	NS
<b>Consumo (g)</b>	8614	8998	8098	8385	259,4	NS

Sin embargo, Espinosa *et al.* (2003) observaron que una separación coneja-camada de 48 horas en el 9º día post-parto, da lugar a cantidades de leche globales inferiores a las de un grupo control. Es bien sabido que el número de células secretoras de la mama aumenta de forma exponencial durante la gestación y que tras el parto, a pesar de que el índice mitótico cae dramáticamente, se mantiene una cierta proliferación hasta alcanzar el punto de máxima producción lechera. Knight (2000) observa en los primeros días de la lactación un incremento neto del número de células secretoras de 2,5 veces en ratones y 5 veces en cabras. Sus resultados muestran que en ratonas a las que se les devuelven las crías tras un periodo de separación de 48 horas, se produce una mayor tasa de proliferación celular que contrarresta los fenómenos de involución mamaria. En conclusión, es posible que la producción global de leche no se vea tan afectada por las separaciones de camada realizadas en días próximos al parto como en estadios de lactación más avanzados.

## BIBLIOGRAFIA

- Davis, S.R.; Farr, V.C.; Stelwagen, K. (1999). *Livest Prod Sci* **59**, 77-94.
- Espinosa, A.; Rebollar, P.G.; Carabaño, R. (2003). XXVIII Symposium de Cunicultura. Asociación Española de Cunicultura, Teruel, España, 177-186.
- Fortun-Lamothe, L.; Prunier, A.; Bolet, G.; Lebas, F. (1999). *Livest Prod Sci* **60**, 229-241.
- Fuchs, A.R.; Cubile, L.; Yusoff, D.M.; Jorgesen, F.S. (1984). *Endocrinology* **114**, 462-469.
- Hluchy, S.; Uhrin, V.; Cupka, P. (1995). *Zivocisna Vyroba* **40**, 459-463.
- Knight, C.H. (2000). *Livest Prod Sci* **66**, 169-176.
- SAS (1999). SAS7STAT User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. INC., Cary, NC.
- Theau-Clément, M.; Lebas, F. (1996). *World Rabbit Science* **4**, 47-56.

El presente trabajo ha sido financiado por el MCYT (AGL- 2002-00310).





**CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS  
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA**

**CIHEAM/IAMZ - Cursos 2004-05-06**

**CIHEAM**

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
<b>PRODUCCIÓN VEGETAL</b>	*MEJORA GENÉTICA VEGETAL	4 Oct. 04/ 10 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ
	GESTIÓN DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA: SEGUROS AGRARIOS	22-26 Nov. 04	Zaragoza	IAMZ/MAPA-ENESA/ OCDE/AECI
	USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN MEJORA VEGETAL	17-28 Ene. 05	Cabrils	IAMZ/IRTA
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	26 Sep. 05/ 31 Mayo 06	Córdoba CSIC/COI/IAMZ	UCO/CAP-JA/
	DISEÑO Y ANÁLISIS DE SERIES DE ENSAYOS: MÉTODOS CLÁSICOS Y BASADOS EN QTLs	12-23 Sep. 05	Zaragoza	IAMZ/Generation Challenge Program
	AGRICULTURA DE REGADÍO SOSTENIBLE EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA: GESTIÓN DE INSUMOS Y CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN	14-25 Nov. 05	Zaragoza	IAMZ
	HORTICULTURA INTENSIVA Y MEDIO AMBIENTE	16-20 Ene. 06	Zaragoza	IAMZ
	CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD ESPACIAL Y TEMPORAL PARA LA PLANIFICACIÓN AGRARIA Y EL MANEJO DE CULTIVOS EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS	7-17 Mar. 06	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	ALIMENTOS FUNCIONALES: BASES CIENTÍFICAS Y OPORTUNIDADES PARA EL SECTOR AGROALIMENTARIO	3-7 Abr. 06	Zaragoza	IAMZ
<b>PRODUCCIÓN ANIMAL</b>	PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO DE CAMPAÑAS DE SANEAMIENTO GANADERO	13-17 Sep. 04	Zaragoza	IAMZ/FAO/OIE
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS: SISTEMAS Y TÉCNICAS	13-17 Dic. 04	Zaragoza	IAMZ
	VALORIZACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS DE OVINOS Y CAPRINOS EN EL ÁREA MEDITERRÁNEA. TECNOLOGÍAS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE MERCADO	7-18 Feb. 05	Pamplona	IAMZ/Univ. Pública de Navarra
	TÉCNICAS MOLECULARES EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL	4-8 Abr. 05	León	IAMZ/Univ. León
	PRODUCCIÓN ANIMAL Y GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	2-7 Mayo 05	Fonte Boa	IAMZ/EZN
*PRODUCCIÓN ANIMAL	3 Oct. 05/9 Jun. 06	Zaragoza IAMZ		

(\* **Cursos de Especialización Postuniversitaria** del correspondiente Programa Master of Science (\*marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 04-05; 06-07; 08-09
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 03-04; 05-06; 07-08
- PRODUCCIÓN ANIMAL: 03-04; 05-06; 07-08
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 04-05; 06-07; 08-09
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 03-04; 05-06; 07-08
- ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA: 04-05; 06-07; 08-09
- ACUICULTURA: 04-05; 06-07; 08-09

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización postuniversitaria. No obstante se estructuran en ciclos independientes para facilitar la asistencia de profesionales interesados en aspectos parciales del programa. Los participantes que cumplan los requisitos académicos pueden optar a la realización del 2º año para la obtención del Título Master of Science. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora Genética Vegetal, Ordenación Rural en Función del Medio Ambiente y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2002. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente, Economía y gestión de la actividad pesquera y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2004. El plazo de inscripción para el curso de Olivicultura y elaiotecnica finaliza el 15 de Abril 2005. El plazo de inscripción para los cursos de Producción animal y Marketing agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2005.

Los **cursos de corta duración** están orientados preferentemente a investigadores y profesionales relacionados en el desarrollo de sus funciones con la temática de los distintos cursos. El plazo de inscripción para los cursos de corta duración finaliza 90 días antes de la fecha de inicio del curso.

**Becas.** Los candidatos de países miembros del CIHEAM (Albania, Argelia, Egipto, España, Francia, Grecia, Italia, Líbano, Malta, Marruecos, Portugal, Túnez y Turquía) podrán solicitar becas que cubran los derechos de inscripción, así como becas que cubran los gastos de viaje y de estancia durante el curso. Los candidatos de otros países interesados en disponer de financiación deberán solicitarla directamente a otras instituciones nacionales o internacionales.

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
<b>MEDIO AMBIENTE</b>	PROGRAMAS DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL PARA EL CONTROL DE INCENDIOS FORESTALES EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	27 Sep./1 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/MMA-DGB/FAO/AECI
	*PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	4 Oct. 04/	Zaragoza 10 Jun. 05	IAMZ
	ECONOMÍA AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	24 Ene./4 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ
	RESTAURACIÓN FORESTAL EN LA LUCHA CONTRA LA DESERTIFICACIÓN: INNOVACIONES, CONTROL DE CALIDAD Y EVALUACIÓN DE PROYECTOS	19-25 Sep. 05	Zaragoza	IAMZ/REACTION/CE-DGInvestigación
	NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA PLANIFICACIÓN INTEGRADA DE LOS RECURSOS HÍDRICOS EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	12-16 Dic. 05	Zaragoza	IAMZ
	MITIGACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA SEQUÍA: MÉTODOS, TÉCNICAS Y ALTERNATIVAS DE GESTIÓN	12-16 Feb. 06	Aleppo	IAMZ/ICARDA/FAO
	DIAGNÓSTICO, SEGUIMIENTO Y GESTIÓN DE LA SALUD DE LOS BOSQUES	20-25 Feb. 06	Zaragoza	IAMZ
	BALANCE DE CARBONO EN SISTEMAS AGRARIOS Y FORESTALES: EL POTENCIAL DE REDUCCIÓN DE EMISIONES Y LOS COMPROMISOS DEL PROTOCOLO DE KIOTO	27-31 Mar. 06	Barcelona	IAMZ/CREAF
	LOS INDICADORES AMBIENTALES COMO HERRAMIENTA DE APOYO A LA GESTIÓN SOSTENIBLE DEL MEDIO RURAL	8-12 Mayo 06	Zaragoza	IAMZ
	SISTEMAS DE AYUDA A LA DECISIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA GESTIÓN MEDIOAMBIENTAL DE ZONAS RURALES	12-16 Jun. 06	Zaragoza	IAMZ
<b>COMERCIALIZACIÓN</b>	LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO Y SU IMPACTO EN EL COMERCIO INTERNACIONAL AGROALIMENTARIO	18-22 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/OMC
	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO: NORMATIVAS, SISTEMAS Y REPERCUSIONES EMPRESARIALES	7-11 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO DE LOS ALIMENTOS: RESPUESTA A LOS REQUERIMIENTOS DE SEGURIDAD Y DE MERCADO	14-18 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	MARKETING DE FRUTAS Y HORTALIZAS EN FRESCO	11-22 Abr. 05	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING EN EL MERCADO INTERNACIONAL DEL VINO	16-20 Mayo 05	Zaragoza	IAMZ
	*MARKETING AGROALIMENTARIO	3 Oct. 05/9 Jun. 06	Zaragoza	IAMZ
<b>PESCA Y AGRICULTURA</b>	DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE ENFERMEDADES DE PECES EN ACUICULTURA MARINA MEDITERRÁNEA	13-24 Sep. 04	Santiago de Compostela	IAMZ/Univ. Santiago de Compostela
	*ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA	27 Sep. 04/ 18 Mar. 05	Barcelona	Univ. Barcelona/ MAPA/FAO/IAMZ
	*ACUICULTURA	6 Oct. 04/ 8 Abr. 05	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/IAMZ
	DISEÑO Y GESTIÓN DE CRIADEROS DE MOLUSCOS BIVALVOS	14-19 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO
	ESTABLECIMIENTO Y GESTIÓN DE AREAS MARINAS PROTEGIDAS DE INTERÉS PESQUERO	7-12 Mar. 05	Palma de Mallorca	IAMZ/IEO
	USO DE LOS SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA EN PESCA Y ACUICULTURA	13-24 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ/AECI
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS DEL MAR: SISTEMAS Y TÉCNICAS	17-21 Oct. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO
	MEJORAS TECNOLÓGICAS EN ARTES DE PESCA PARA UNA GESTIÓN SOSTENIBLE	6-10 Feb. 06	Zaragoza	IAMZ
	ACUICULTURA MEDITERRÁNEA Y GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	24-28 Abr. 06	Murcia	IAMZ/CAA-CARM
	CULTIVO DE ALGAS MARINAS: TÉCNICAS, USOS Y PERSPECTIVAS DE DESARROLLO	22-26 Mayo 06	Zaragoza	IAMZ

**Información e inscripción.** Los folletos informativos de cada curso se editan 6-8 meses antes de la fecha de inicio. Dichos folletos, así como los correspondientes formularios de inscripción pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

### Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Apartado 202 - 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)  
Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org  
[www.iamz.ciheam.org](http://www.iamz.ciheam.org)

