

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

XXXVIII JORNADAS DE ESTUDIO

XII JORNADAS

SOBRE PRODUCCION ANIMAL

16 y 17 de mayo de 2007

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:

BEGOÑA PANEA DOBLADO

COORDINADORES DE SECCION:

Genética: JORGE HUGO CALVODO

Patología Animal: RAÚL CARLOS MAINAR JAIME

Nutrición-Alimentación Animal: MARGALIDA JOY TORRENS

Sistemas Ganaderos-Economía y gestión: ISABEL CASASÚS PUEYO

Calidad de los Productos: M^a ANGELES LATORRE GÓRRIZ

Reproducción: ALBINA SANZ PASCUA

Secretaría: Mercedes Ferruz Andrés

Mayo 2007 Volumen Extra Número 28 tomo I	DIRECCION Y REDACCION Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 1130-6009 INO Reproducciones, S.A. 50016 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, sed bienvenidos a las Jornadas sobre Producción Animal organizadas por AIDA.

Como cada dos años, tendremos la oportunidad de presentar los últimos resultados de la investigación en producción animal, de comentar las líneas que se están abriendo y los proyectos que tenemos en marcha o en la cabeza. También, cómo no, de reencontrarnos con los amigos, a los que agradecemos siempre su presencia y colaboración. Pero también es la ocasión de conocer a los nuevos investigadores. Sabemos que estas Jornadas son, para muchos de ellos, la primera oportunidad de defender sus trabajos en público y queremos desde aquí animarles en su nueva andadura.

En esta edición se han presentado 262 trabajos y nos alegra constatar la presencia creciente de investigadores portugueses y sudamericanos, con quien sin duda, nos unen intereses comunes. Muchos de los trabajos presentados en esta edición son multidisciplinares y, de hecho, ha sido a veces complicado encuadrarlos en una sección, ya que abordan varios aspectos de la producción, desde el animal vivo hasta el producto. Entendemos que es el signo de los nuevos tiempos y nos alegra ver que la producción animal se contempla desde una perspectiva amplia e integral.

En estas jornadas se han consolidado muchos de los cambios que se introdujeron en la edición pasada. También hemos introducido novedades, principalmente la inscripción y el envío de trabajos por correo electrónico. Esperamos que hayan facilitado y agilizado la labor de todos. Hemos tratado también de implicar en la organización a investigadores que reúnen preparación, experiencia y juventud, y que son en su mayoría doctores contratados en el marco de los acuerdos entre el INIA y las Comunidades Autónomas.

Queremos agradecer su esfuerzo a todos aquellos que han contribuido a que este encuentro sea posible un año más. Muy especialmente, a los secretarios de las distintas secciones, que han realizado un estupendo e intenso trabajo de revisión y organización; a los evaluadores y moderadores, por su inestimable colaboración; a Dña. Isabel Vázquez, por su amabilidad al aceptar nuestra invitación para dar la conferencia inaugural; a Merche Ferruz, que está siempre donde y cuando hace falta; al IAMZ, por su siempre buena disposición y al resto de las instituciones y organismos que han colaborado en la organización o en la financiación.

Y, por supuesto, a todos los que con vuestra asistencia y trabajo hacéis posibles estas Jornadas.

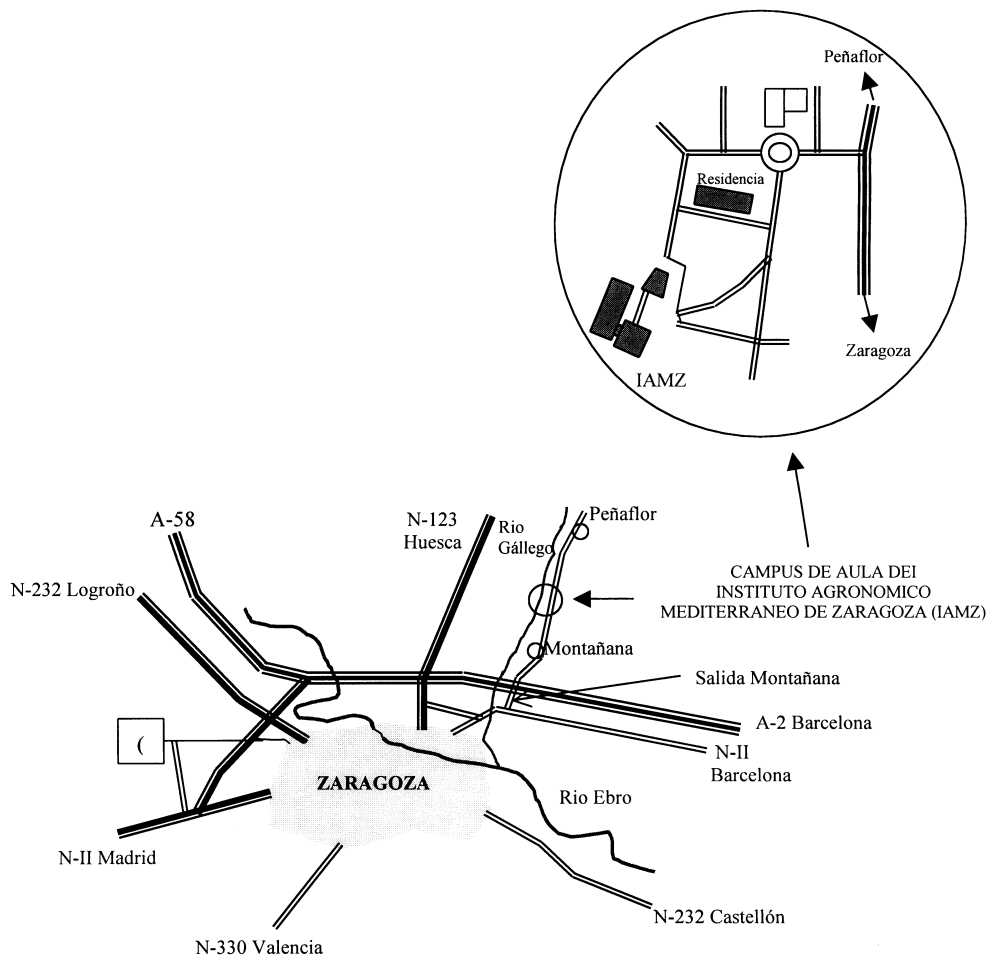
BEGOÑA PANEA DOBLADO

Secretaria de las XII Jornadas de Producción Animal

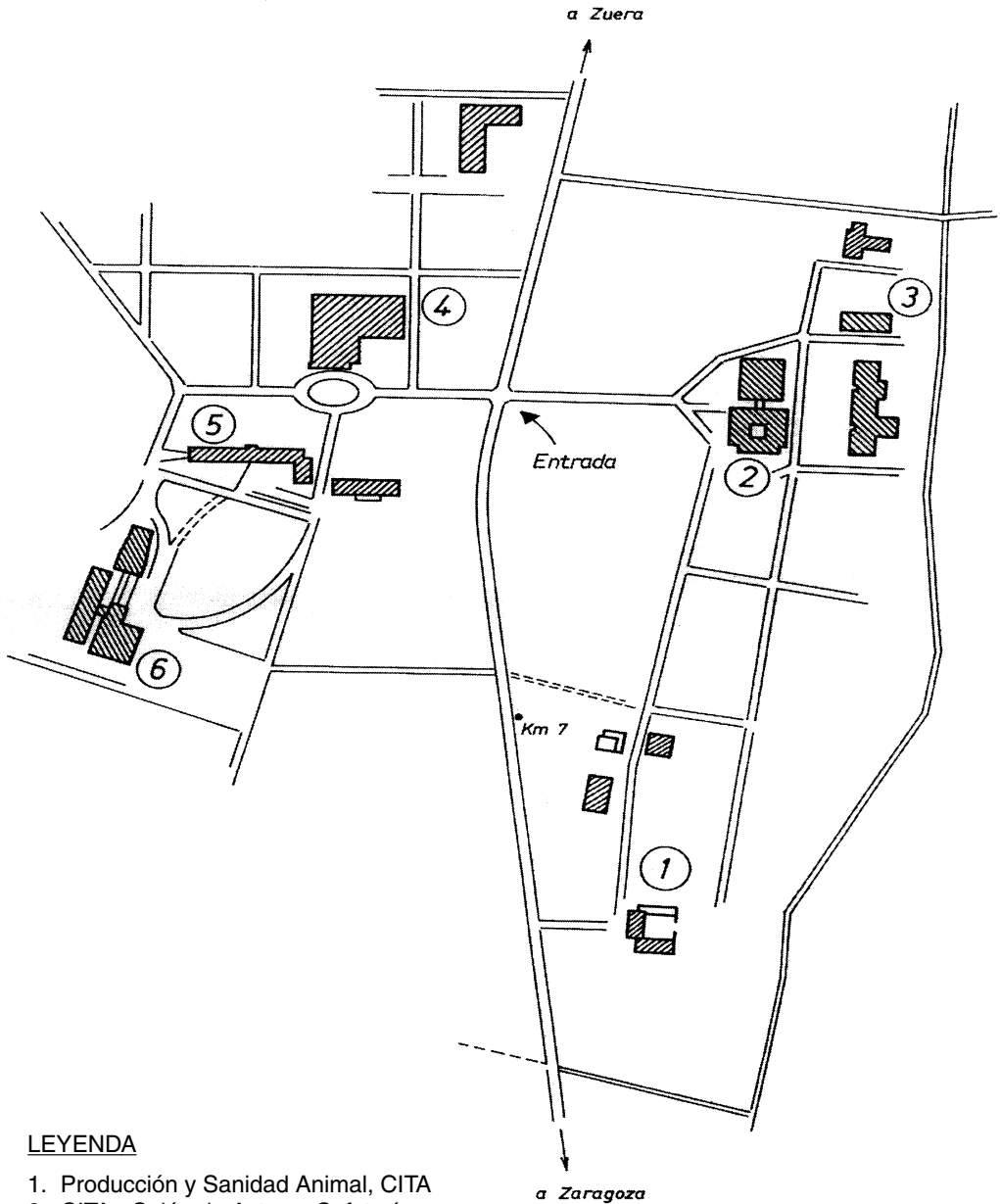
CIHEAM - Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ)
Carretera de Montañana 1005, Apartado 202 - 50080 Zaragoza - España - Spain
Tel.: +34 976 716000 – Fax: +34 976 716001 - e-mail: iamz@iamz.ciheam.org

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 XII JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL AIDA

Miércoles, 16 de mayo de 2007

Mañana:

	Genética	Patología	Nutrición - Alimentación	Sistemas - Economía	Calidad Productos	Reproducción
Lugar	Salón de Actos	Sala de Juntas	AULA C	AULA B	AULA D	AULA A
ENTREGA DE DOCUMENTACION INAUGURACION						
8:30 - 10:30	CONFERENCIA INAUGURAL "La I+D Agroalimentaria y sus necesidades de futuro" (Ponente: Dña. Isabel Vázquez, INIA)					
Café						
11:00 - 14:30	Trazabilidad y genética de poblaciones (6c.) (Mod. J. Fernández)	Charla: "El síndrome de despoblamiento de las abejas: situación actual". Ponente: Aránzazu Meana	Rumiantes: valoración nutritiva I (7 c.) (Mod. M. J. Ramilla)	Economía (4 c.) (Mod. A. Olaizola)	Porcino no Ibérico (4 c.) (Mod. C.J. López-Bote)	Semen de rumiantes (5c.) (Mod. M ^a T. Paramio)
	Selección (4 c.) (Mod. A. Blasco)				Porcino Ibérico (5 c.) (Mod. E. de Pedro)	
	Análisis de supervivencia (3 c.) (Mod. L.A. García-Cortés)				Rumiantes: valoración nutritiva II (6 c.) (Mod. J. González)	Pequeños rumiantes (3 c.) (Mod. P. Lavín)
14:30 - 15:30	Comida					

Miércoles, 16 de mayo de 2007

Tarde:

	Genética	Patología	Nutrición - Alimentación	Sistemas - Economía	Calidad Productos	Reproducción
<i>Lugar</i>	<i>Salón de Actos</i>	<i>Sala de Juntas</i>	<i>AULA C</i>	<i>AULA B</i>	<i>AULA D</i>	<i>AULA A</i>
15:30 - 16:30	Sesión de pósters (I). Visita Porcino, aves, equinos (11 p.)		Rumiantes: valoración nutritiva III (4 c.) (Mod. E. Molina)	Vacuno I (4 c.) (Mod. A. Daza)	Sesión de pósters Visita (15 p.)	Gametos, fecundación, embriones (10 c.) (Mod. M ^a J. Cocero)
16:30 - 17:00	Pausa					
17:00 - 18:00	Sesión de pósters (I) Discusión. Porcino, aves, equinos (Mod. J.L. Campo)		Alimentación del ganado vacuno (7 c.) (Mod. A.R. Mantecón)	Vacuno II (6 c.) (Mod. R. Revilla)	Sesión de pósters Discusión. (Mod. G. Indurain)	Gametos, fecundación, embriones (continuación) (Mod. M ^a J. Cocero)
18:00-19:00	Genética funcional (4 c.) (Mod. R. Pena)					
19:00 h	Vino de AIDA					

Jueves, 17 de mayo de 2007

Mañana:

	Genética	Patología	Nutrición - Alimentación	Sistemas - Economía	Calidad Productos	Reproducción
Lugar	Salón de Actos	Sala de Juntas	AULA C	AULA B	AULA D	AULA A
09:00 - 10:30	QTLs y Genes candidatos I (6c.) (Mod. M. Amills)	Patología parasitaria. Parte I. (6 c.) (Mod. J. Uriarte)	Alimentación del ganado ovino (6 c.) (Mod. C. Castrillo)	Monogástricos (4 c.) (Mod. D. Villalba)	Ovino: efecto de factores no alimentarios (7 c.) (Mod. J.L. Olleta)	Reproducción de monogástricos (5c.) (Mod. J. Folch)
10:30 - 11:00	Café					
11:00 - 14:30	QTLs y Genes candidatos II (5c.) (Mod. A. Fernández)	Patología parasitaria. Parte II. (8 c.) (Mod. J. Uriarte)	No rumiantes I (7c.) (Mod. J. Gasa)	Miscelánea (6 c.) (Mod. A. Bernues)	Ovino: efecto de la alimentación (4 c.) (Mod. J.A. Mendizábal)	Reproducción de rumiantes (5c.) (Mod. J.A. Abecia)
	Miscelánea (7 c.) (Mod. L. Varona)		No rumiantes II (6 c.) (Mod. G. González-Mateos)			
14:30 - 15:30	Comida					

Jueves, 17 de mayo de 2007

Tarde:

	Genética	Patología	Nutrición - Alimentación	Sistemas - Economía	Calidad Productos	Reproducción
Lugar	Salón de Actos	Sala de Juntas	AULA C	AULA B	AULA D	AULA A
15:30 -16:30	Sesión de pósters (II). Visita Rumiantes y conejos (13 p.)	Patología infecciosa. Parte I. (4 c.) (Mod. M ^a J. Grillo)	Sesión de pósters. Visita (15 p.) Sesión de pósters. Discusión. (Mod. F. Vicente)		Bovino: efecto de la alimentación I. (4 c.) (Mod. C. Vieira)	Charla: "Biotecnología de la reproducción en pequeños rumiantes". Ponente: María D'Attena.
16:30 - 17:00	Pausa					
17:00 – 17:30	Sesión de pósters (II). Discusión. Rumiantes y conejos (Mod. F. Goyache)	Patología infecciosa. Parte II. (5 c.) (Mod. M ^a J. Grillo)	Sesión de pósters. Discusión (cont.) (Mod. F. Vicente) Rumiantes: Fisiología-metabolismo (5 c.) (Mod. J. Balcells)		Bovino: efecto de la alimentación II. (6 c.) (Mod. P. Albertí)	
17:30-19:00						
19:00 h	Asamblea de AIDA					

A Juana María Garbayo y Rafael Delfa, in memoriam

ÍNDICE

TOMO I

REPRODUCCIÓN

Reproducción: Semen de rumiantes

- Efecto de la utilización de fotoperiodo y/o melatonina durante el anestro estacionario sobre parámetros de calidad seminal en caprinos mediterráneos. -Gatica,M.C., Guzmán J.L., Martino A., Zarazaga L.A. 3
- Efecto de los implantes de melatonina en la motilidad del semen de morueco de raza Rasa Aragonesa en época de anoestro. - Casao A., Vega S., Palacín I., Pérez-Pé R., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T., Abecia J.A., Forcada F. 6
- Unión a zona pelúcida de espermatozoides ovinos seleccionados por swim-up/dextrano. - Colás C., Casao A., Abecia J.A., Forcada F., Pérez-Pé R., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. 9
- Identificación de calmodulina e implicación en la capacitación de espermatozoides ovinos. - Colás C., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. 12
- Valoración del daño en el DNA mediante túnel en muestras capacitadas en esperma ovino. - Pérez-Pé R., Colás C., Mendoza N., Muiño-Blanco T., Cebrián-Pérez J.A. . . 15

Reproducción: Semen de monogástricos

- Análisis cromosómico en machos de conejo. Resultados preliminares. - Lavara R., Baselga M., Vicente J.S.. 18
- Pérdida de viabilidad de los espermatozoides de verraco a lo largo del proceso de crioconservación. - Blanch E., Mocé E. 21
- Efecto de la refrigeración y la congelación en la estructura nucleoproteica del espermatozoide porcino. - Flores E., Medrano A., Ramió-Lluch L., Rodríguez-Gil J.E. 24
- Efecto del aditivo seminal lechón-plus® sobre la fertilidad y prolificidad de cerdas adultas con dosis seminales conservadas en refrigeración durante 24 y 48 horas. -Román M.T., Domínguez J.C., Abad M., Peláez J. 27
- Estudio de la capacitación espermática *in vitro* en espermatozoides eyaculados y epididimarios. - Matás C., García-Vázquez F., Sansegundo M., Gadea J., Coy P., Ruiz S. 30

Reproducción: Gametos, fecundación y embriones

- Utilización de la lopu en caprino: valores foliculares y ovocitarios. - Romaguera R., Chacaltana A., Fonseca C., Anguita B., Catalá M., Casanovas A., Mogas T., Izquierdo D., Paramio MT. 33
- Efecto de la melatonina en los procesos de IVM e IVF en la especie ovina. - Casao A., Yáñez J., Forcada F., Abecia J.A., Cebrián-Pérez J.A., Muiño-Blanco T. 36
- Eficiencia de la recuperación *in vivo* de óvulos de coneja por laparoscopia. - Cortell C., Vicente J.S., Mocé E., Marco-Jiménez F., Viudes De Castro M.P. 39
- Patrones nucleares y citoplasmáticos durante la maduración *in vitro* de oocitos de coneja. - Arias-Álvarez M., López-Béjar M., Rebollar P.G., García-García R.M., Lorenzo P.L. 42

- Efecto de la apoptosis en el complejo cumulus-ovocito de cabras prepúberes sobre el desarrollo embrionario. - Anguita B., Jiménez-Macedo A.R., Romaguera R., Paramio M.T., Mogas T., Izquierdo D.	45
- Efecto del tratamiento espermático con triton x-100 en la producción de embriones porcinos mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides. - García-Mengual E., Alfonso J., García-Roselló E., Salvador I., Silvestre M.A.	48
- Efecto del tratamiento espermático y el tamaño de ADN en la interacción transgén-espermatozoide en la especie porcina. - García-Vázquez F., Gumbao D., Gutiérrez-Adán A., Gadea J.	51
- Espermatozoides como vectores de ADN exógeno: producción de embriones porcinos transgénicos mediante diferentes tratamientos espermáticos. - García-Vázquez F., Grullón L., Ruiz S., Gutiérrez-Adán A., Gadea J.	54
- Detección de proteínas asociadas a la gestación (PAG) secretadas por embriones preimplantacionales de rumiantes domésticos. - Serrano, B., Yániz, J.L., Sanz, A., López-Gatius, F., Garbayo, J.M.	57
- Diagnóstico genético preimplantacional en embriones vitrificados: sexaje de embriones y genotipado del gen de resistencia al scrapie. Resultados preliminares. - Derwish, E., Martínez- Royo, A., Sánchez, P., Alabart, J.L., Cocero, M.J., Folch, J., Calvo, J.H.	60
Reproducción: Reproducción de monogástricos	
- ¿Desempeña la serosa peritoneal un papel activo en la fisiología reproductiva de la cerda? - Yániz J.L., Santolaria P., Hunter R.H.F., López-Gatius F.	63
- Resultados de un programa de inseminación artificial de gallinas de Guinea. - Muriel, A., Serrano, A.	66
- Análisis de la fertilidad y determinación de la mortalidad embrionaria en huevos de gallinas de Guinea.- Muriel, A., Serrano, A.	69
- Relación entre el peso y la tasa de ovulación en conejo.- Agea I., Muelas R., García M.L., Argente M.J.	72
- Parámetros productivos y niveles plasmáticos de leptina en conejas sometidas a diferentes pautas de alimentación durante la recría.- Nicodemus N., Fernández B., Millán P., Pereda N., Lorenzo P.L., Rebollar P.G.	75
Reproducción: Reproducción de rumiantes	
- Factores que afectan a la concentración plasmática de progesterona durante el periodo fetal temprano en ganado vacuno lechero. - Bech-Sàbat G., García-Ispuerto I., Yániz J.L., López-Gatius F.	78
- Uso de semilla de lino extrusionada en vacuno lechero: Resultados productivos y reproductivos.- Fuentes M.C., Calsamiglia S., Sánchez C., González A., Santos J.E., Newbold J.R., Fontecha J., Rodríguez-Alcalá L.M.	81
- Eficiencia reproductiva de explotaciones de vacuno de carne en zonas de montaña de Asturias. - García-Paloma, J.A., Martínez, M., Lombardía, V., Suárez, F.	84
- Parámetros reproductivos en la población bovina autóctona portuguesa Barrosã: efectos significativos para el intervalo entre partos de la raza. - Vieira e Brito, A.N., Antunes, V., Costa, M.C., Vieira, J., Cerqueira, E.; Costa, M.L.; Martinez, M.G., Oliveira, J.C.	87

- Estudio de diferentes efectos influenciadores en la edad al 1º parto en la raza bovina autóctona portuguesa Barrosã. - Vieira e Brito, A.N., Antunes, V., Costa, M.C., Vieira, J., Cerqueira, E., Costa, M.L., Martinez, M.G., Oliveira, J.C. 90
- Desarrollo de una nueva variante del método B.O.S. de sincronización precisa de celo caprino para aumentar la tasa de gemelaridad sin utilizar gonadotropinas. primera fase. - Hernández F.I., Serrano A., Gordón A., Risco A. 93
- Incorporación de la inseminación artificial en el programa de mejora de la raza caprina Payoya.- Arrebola, F.A., González-Casquet O., Torres, R., González, B.J., García, A., Martín, R.A. 96

NUTRICIÓN-ALIMENTACIÓN

Nutrición-Alimentación: Rumiantes: valoración nutritiva I

- Efectos de la contaminación microbiana sobre la valoración *in situ* del grano de trigo. - Arroyo, J.Mª., González, J., Rodríguez, C.A., Alvir, M.R., Ouarti, M. 99
- Degradabilidad ruminal de la pared celular del heno de alfalfa. - Alvir, M.R., Palacios, M., Rodríguez, C., González, J. 102
- Efectos de la tasa de conminución de partículas y de su contaminación microbiana en el rúmen sobre la valoración *in situ* de un heno ray-gras italiano. - González, J., Arroyo, J.M., Alvir, R.M., Rodríguez, C.M., Ouarti, M. 105
- Evaluación *in vitro* del efecto de aceites esenciales sobre la fermentación microbiana ruminal. - Castillejos, L., Calsamiglia, S., Martín-Tereso, J., ter Wijlen, H. 108
- Efecto de diferentes inóculos ruminales de vacuno lechero en la reproducibilidad de la digestibilidad *in vitro* (daisyii) de la materia seca y la fibra neutro detergente. - Arriaga, H., Zanfi, C., Merino, P., Calsamiglia, S., Spanghero, M. 111
- Estudio comparativo *in vitro* de la fermentación microbiana de la cabra montés. - de la Fuente, G., Belanche, A., Fondevila, M. 114
- Efecto de la administración de una preparación de anticuerpos policlonales contra *s. Bovis* sobre la fermentación ruminal en una adaptación rápida a concentrado. - Blanch, M., Calsamiglia, S., DiLorenzo, N., DiCostanzo, A. 117

Nutrición-Alimentación: Rumiantes: valoración nutritiva II

- Fermentación ruminal en caprino y en fermentadores de flujo continuo promovida por dietas con distintas proporciones de heno de alfalfa y concentrado.- Cantalapiedra, G. Martín, A.I., Moumen, A., Molina-Alcaide, E. 120
- Efecto de la adición de aceites vegetales al pienso sobre la actividad fermentativa en el rumen.- Vargas, J.E., López, S., Yañez-Ruiz, D.R., Fernández, M. 123
- Efectos del tratamiento con una enzima fibrolítica sobre la fermentación ruminal y el crecimiento microbiano en fermentadores. - Giraldo, L.A.,Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 126
- Efectos del pH y del tipo de ácidos grasos de la dieta sobre la fermentación microbiana ruminal en cultivo continuo.- Fuentes, M. C., Calsamiglia, S. 129
- Efectos de levaduras sobre la fermentación microbiana ruminal en un sistema de fermentación de cultivo continuo. - Moya D., Calsamiglia, S., Ferret A., Fuentes, M.C. 132

- Estudio *in vitro* del efecto del flujo de fase líquida y del pH sobre la fermentación microbiana en dietas concentradas.- Fondevila, M., Pérez, B. 135

Nutrición-Alimentación: Rumiantes: valoración nutritiva III

- Utilización de malato en raciones a base de trigo o una mezcla de mandioca y cebada en el cebo intensivo de corderos (2): Digestibilidad de nutrientes. - Mungó, M., Flores, C., Casals, R., Caja, G. 138
- Excreción de nitrógeno en vacas lecheras alimentadas con ensilados de hierba conservados con ácido fórmico o ensilado de maíz. - Salcedo, G. 141
- Potencial de nuevos instrumentos NIR para el control sobre la línea del proceso de piensos compuestos.- Fernández de Ahumada, E., Guerrero, J.E., Pérez, D., Garrido, A. 144
- Validación de la técnica RTi-PCR para la detección y cuantificación de ingredientes de origen animal en piensos compuestos.- Vicente, F., González, M.T., Pérez, M., Presa, P., de la Roza-Delgado, B. 147

Nutrición-Alimentación: Alimentación del ganado vacuno

- Ensilado de maíz vs. ácido fórmico utilizado como conservante en el ensilado de hierba: Efectos sobre la producción y composición química de la leche.- Salcedo, G. 150
- Efecto de la inclusión de soja forrajera y del estado fenológico del maíz en la producción y calidad de la leche.- Argamentería, A., Vicente, F., Martínez-Fernández, A., de la Roza-Delgado, B. 153
- Efecto de un adsorbente de micotoxinas (AflaDetox) en la ración de vacas lecheras sobre la concentración de aflatoxina M1 en la leche. - Denli, M., Blandon, J.C., Salado, S., Pérez, J.F., Calsamiglia, S. 156
- Uso de semilla de lino extrusionada en vacuno lechero: resultados productivos y reproductivos. - Fuentes, M. C., Calsamiglia, S., Sánchez, C., González, A., Santos, J.E., Newbold, J.R., Fontecha, J., Rodríguez-Alcalá, L.M. 159
- Efectos a corto y largo plazo de una alimentación con un alto nivel de leche maternizada durante la fase de lactancia en terneras de recría.- Terré, M., Tejero, C., Bach, A. 162
- Supresión de la paja de cereal en el cebo de terneros. Efecto sobre el comportamiento de los animales.- Faleiro, A. G., Ferret, A., Manteca, X., Ruiz de la Torre, J. L., Calsamiglia, S. 165
- Efectos del número de espacios en comedero de pienso por corral sobre la producción y características de la canal en terneros de cebo intensivo.- González L. A., Ferret, A., Manteca, X., Ruiz de la Torre, J.L., Calsamiglia, S., Devant M., Bach A. 168

Nutrición-Alimentación: Alimentación del ganado ovino

- Efecto de la suplementación de la dieta de ovejas lecheras con aceite de soja sobre el rendimiento productivo de los animales y el perfil de ácidos grasos y la composición de CLA de la leche.- Hervás, G., Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Juárez-Iglesias, M., Mantecón, A.R., de la Fuente, M.A. 171
- Efecto de la adición de urea a la cebada en grano sobre la selección de la dieta, el rendimiento productivo y las características de la canal de corderos criados en sistemas de libre elección de alimentos. - Rodríguez, A.B., López-Campos, O., Hervás, G., Lavín, P., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J. 174
- Utilización de malato en raciones a base de trigo o una mezcla de mandioca y cebada en el cebo intensivo de corderos (1): Rendimiento productivo.- Mungó, M., Casals, R., Flores, C., Caja, G. 177

- Efecto de dosis crecientes de malato sobre el comportamiento productivo y fermentación en corderos alimentados con dieta alta en concentrado.- Mungó, M., Casals, R., Flores, C., Caja, G. 180
- Inclusión de pulpa de remolacha y bicarbonato sódico en la ración de corderos en la fase de cebo. - Bodas, R., Rodríguez, A.B., Lavín, P., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., López, S. 183
- Efecto del nivel de ingestión durante la lactancia y la primera fase de la recría sobre el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche en corderas de raza Assaf. - Castañares, N., Gonzalo-Orden, J.M., Mantecón, A.R., López, J., Hervás, G. 186

Nutrición-Alimentación: No rumiantes I

- Efecto de temperaturas ambiente elevadas sobre la ingestión voluntaria y la producción de la cerda lactante en condiciones comerciales. - Anguita, M., Barrufet, M., Cerisuelo, A., Manzanilla, E.G., Pérez, J.F., Gasa, J. 189
- Efecto de la intermitencia en la lactancia sobre parámetros productivos del lechón ibérico. - Gómez, F., Aguinaga, M.A., Nieto, R., Aguilera, J.F. 192
- Influencia del balance electrolítico sobre los resultados productivos en lechones. - Lizardo R., Salomó, J., Brufau, J., Esteve, E. 195
- Influencia de la sustitución de productos de soja por concentrado de proteína de guisante sobre los parámetros digestivos de lechones. - Valencia, D. G., Serrano, M. P., Lázaro, R., Mateos, G. G. 198
- Efecto del salvado de trigo y de la pulpa de remolacha en la ración sobre la microbiota intestinal y la maduración digestiva en lechones recién destetados. - Molist, F., Gómez de Segura, A., Manzanilla, E.G., Gasa, J., Hermes, R.G., Pérez, J.F. 201
- Efecto de dietas suplementadas con ácidos orgánicos protegidos y no protegidos sobre la fermentación intestinal y la excreción de *salmonella* en cerdos al final del engorde. - dos Santos, J., Creus, E., Pérez, J.F., Mateu, E., Martín-Orúe, S.M. 204
- Efecto de la grasa de la dieta sobre la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico del cerdo. - Duran-Montgé, P., Theil P.K., Lauridsen C., Esteve-García, E. 207

Nutrición-Alimentación: No rumiantes II

- Efecto de la alimentación con materias grasas recicladas sobre parámetros productivos y el rendimiento a la canal de pollos de carne. - Choque-López, J.A., Baucells, M.D., Mateus E.F., Gómez de Segura, A., Barroeta, A.C. 210
- Efecto de la inclusión de ácidos grasos destilados de palma sobre la productividad y la calidad de la canal del pollo broiler. - Sánchez J., Díaz, D., Gutiérrez, A., Gracia M.I. 213
- Efecto de la fuente y tamaño de partícula de la fibra sobre los parámetros digestivos y productivos en pollitos de engorde de 1 a 21 días de edad. - González-Alvarado, J.M., Jiménez-Moreno, E., González-Sánchez, D., de Coca-Sinova, A., Lázaro, R., Mateos, G.G. 216
- Efecto de las paredes celulares de levadura (*S.cerevisiae*) en dietas de pollos inoculados con *Ips (E. coli)*. - Badía, R., Morales, R., Auclair, E., García, F., Iborra, A., Martínez, P., Brufau, J. 219
- Efecto del nivel de metionina, ácido linoleico y grasa añadida a la dieta sobre la productividad y la calidad del huevo en gallinas Lohmann brown al final del ciclo productivo. - Safaa, H.M., Serrano, M.P., Valencia, D.G., Arbe, X., Lázaro, R., Mateos, G.G. . . . 222

- La bacitracina de cinc ¿afecta al metabolismo proteico de conejas en lactación? - Abecia, L., Balcells J., Fondevila, M., Belenguer, A., Mota M. 225

Nutrición-Alimentación: Pósters

- Screening de productos comerciales sobre la fermentación ruminal *in vitro* (Tilley & Terry). - Moya, D., Calsamiglia, S., Ferret, A., Fandiño, J.I. 228
- Cuantificación de *Streptococcus bovis* y *Megasphaera elsdenii* en líquido ruminal de vaca y ternera mediante la técnica de PCR a tiempo real. - Blanch M., Calsamiglia S., Castelló A. 231
- Evaluación de dos modelos mecanísticos en la excreción de n en vacas lecheras alimentadas con ensilados de hierba conservados con ácido fórmica o ensilado de maíz. - Salcedo, G. 234
- Efecto del pH en el medio de cultivo sobre la digestibilidad *in vitro* de los forrajes. - Vargas, J.E., López, S., Giráldez, F.J., González, J.S. 237
- Selección de aditivos fitogénicos para reducir la metanogénesis ruminal. - Bodas, R., López, S., Fernández, M., García-González, R., Wallace, R.J., González, J.S. 240
- Fermentación ruminal *in vitro* en presencia de monensina: efecto de la adaptación de los microorganismos ruminales del inóculo a la monensina. - Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Giraldo, L.A., Ramos, S., Martínez, M.E., Carro, M.D. 243
- Lactación inducida con o sin reserpina en cabras lecheras nulíparas. - Salama A.A.K., Caja G., Albanell E., Carné S., Casals R., Duch X. 246
- Efecto de la distribución del tiempo de pastoreo sobre la excreción urinaria de derivados púricos en ovejas Latxas en lactación. - Fernández, R., Balcells, J., Oregi, L.M., García-Rodríguez, A. 249
- Lesiones macroscópicas relacionadas con la acidosis ruminal en toros de lidia. - García, J.J., Alonso, M.E., Bartolomé, D.J., Posado, R., Gaudioso, V. 252
- Estudio de las propiedades contráctiles del músculo triceps braquial de toros de lidia de diferentes encastes. - Bartolomé, D.J., Alonso, M.E., García, J.J., Posado, R., Picard, B., Gaudioso, V. 255
- Efecto de las horas de ayuno previas al sacrificio sobre la fermentación cecal y la excreción de salmonella en matadero. - Martín-Peláez, S., Peralta, B., Creus, E., Pérez, J. F., Mateu, E., Martín-Orúe, S.M. 258
- Utilización del suero lácteo líquido en la alimentación del cerdo ibérico durante la recría. - Chávez, L.R., Martín, L., González, E. 261
- Estudio comparativo de dos metodologías analíticas para estimar cenizas insolubles en ácido y digestibilidad fecal en aves. - Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J. M., de Coca-Sinova, A., Lázaro, R., Mateos, G.G. 264
- Comparación de efectos de la suplementación con selenio orgánico (sel-plex®) e inorgánico en cabras lecheras. - Flores, C., Caja, G., Salama, A.A.K., Saldo, J., Blandón, J.C., Fandiño, I., Bertin, G. 267
- Efecto de la aplicación de complejos vitamínicos con o sin ivermectina sobre la ganancia diaria de peso en terneras mestizas Brahman en Venezuela. - Vitto, R., Añez, J., Ciria, J. 270

Nutrición-Alimentación: Rumiantes: Fisiología-metabolismo

- Efecto del sistema de alimentación aplicado en el toro de lidia sobre diversos parámetros indicadores de alteración ruminal. - Bartolomé, D.J., Alonso, M.E., García, J.J., Posado, R., Gómez, L., Gaudioso, V. 273

- Desarrollo anatómico y microbiológico del rumen: efecto de la edad y tipo de dieta. - Belanche, A., De La Fuente, G., Yáñez-Ruiz, D.R., Calleja, L., Balcells, J. 276
- Efecto de la ausencia de protozoos sobre la hidrogenación de ácido linoleico en el rumen de corderos. - Yáñez-Ruiz, D.R., Martín-García, A.I., Belanche, A., Hart, K.J., Newbold C.J. 279
- El consumo de cantidades elevadas de hojas jóvenes de roble (*Quercus pyrenaica*) no resulta necesariamente tóxico para el ganado vacuno. - Frutos, P., Doce, R.R., Hervás, G., Toral, P.G., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., Pérez, V. 282
- Comparación de los efectos de la alimentación pre-puberal en el desarrollo mamario y la producción de leche a la primera lactación en ovino de raza manchega Lacau-ne. - Zidi, A., Caja, G., Ayadi, M., Castillo, V., Flores C., Such, X. 285

SISTEMAS GANADEROS-ECONOMÍA Y GESTIÓN

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Economía

- La formación de los resultados económicos en diferentes tipos de sistemas ovinos que utilizan un espacio natural protegido. - Manrique E., Olaizola A. M., Zamudio, A. 288
- Influencia de la prima fija en los resultados técnicos y económicos de explotaciones ovinas de carne en Aragón. - Pardos L., Maza, M.T., Fantova, E. 291
- Estimación de la carga ganadera económicamente óptima en fincas de ganado vacuno de carne del ecosistema de la dehesa. - Daza A., Martín R. 294
- Impacto económico de la utilización de complejos vitamínicos con o sin ivermectina sobre la ganancia diaria de peso en terneras mestizas Brahman. - Vitto R., Añez J., Ciria J. 297

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Pequeños rumiantes

- Estudio de la productividad de cabras cruzadas en sistemas semiextensivos en la comarca de Vera (Cáceres). - Caballero de la Calle, J.R.; Calle, M.I.; Incera, J.M. . . . 300
- Análisis de factores de variación de la producción láctea en ganado ovino de las razas Castellana y Assaf. - Palacios C., de la Fuente, L. F. 303
- Relación entre las características físicas y la retención de bolos ruminales utilizados en la identificación electrónica de caprino. - Carné, S., Caja, G., Ghirardi, J. J., Salama, A. A. K. 306

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Sistemas Vacuno I

- Sistemas de manejo del ternero en rebaños de vacas nodrizas con parto en invierno. 1. Resultados productivos. - Sanz A., Álvarez-Rodríguez J., Palacio J., Casasús I., Revilla R. 309
- Sistemas de manejo del ternero en rebaños de vacas nodrizas con parto en invierno. 2. Perfiles sanguíneos de ácidos grasos no esterificados. - Álvarez-Rodríguez J., Palacio J., Casasús I., Revilla R., Sanz A. 312
- Consecuencias técnicas del destete precoz de los terneros nacidos en otoño sobre los rendimientos del rebaño en sistemas extensivos. - Casasús I., Blanco M., Sanz A., Bernués A., Revilla R. 315
- Consecuencias económicas del destete precoz de los terneros nacidos en otoño para distintos tipos de explotaciones de vacuno. - Casasús I., Blanco M., Sanz A., Bernués A., Revilla R. 318

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Sistemas Vacuno II

- Efecto de la edad al primer parto sobre caracteres productivos y reproductivos en la raza *Bruna dels Pirineus*. - Fina, M., Casellas, J., Piedrafita, J. 321
- Objetivos y opiniones de los ganaderos de vacuno de carne en el Pirineo Central. - García-Martínez A. Olaizola A.M., Bernués A. 324
- Cambios tecnológicos en los sistemas de vacuno de carne del Pirineo Central. - García-Martínez A. Olaizola A.M., Bernués A. 327
- Efecto de distintas alternativas de cebo sobre los rendimientos técnico-económicos de terneros enteros y castrados de raza Parda de Montaña. - Abidi W., Blanco M., Joy M., Casasús I. 330
- Cebo de terneros con distintas raciones de concentrado: forraje en alimentación ecológica. - Silva M.T., Velasco S., Jiménez M., Tejerina J.I., Cuevas F.J., Dochoa J., Urquía J.J. 333
- Efecto del sexo sobre los resultados económicos del cebo de terneros. - Daza, A. . . 336

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Monogástricos

- Descripción del crecimiento en una población de gallinas autóctonas de la comunidad valenciana: la gallina de Chulilla. - Grimal A., Gómez E.A. 339
- Factores que inciden en la incubabilidad de una población autóctona: la gallina de Chulilla. - Grimal, A., Gómez, E.A. 342
- Resultados preliminares de la caracterización del manejo de las explotaciones de broilers de la Comunidad Valenciana. - Martínez M., Marín C., Estellés F., Torres A., Láinez M. 345
- Estrategias nutricionales para la producción de cerdo ibérico en régimen intensivo. - Serrano M.P., Valencia D.G., Fuentetaja A., Lázaro R., Mateos G.G. 348

Sistemas ganaderos-Economía y gestión: Miscelánea

- Calidad ambiental en alojamientos porcinos de Navarra: repercusiones sobre el bienestar animal. - Aguilar M., Eguinoa, P. Maeztu , F.A. 351
- Calidad ambiental en alojamientos ovinos de Navarra: repercusiones sobre el bienestar animal. - Aguilar M., Eguinoa, P., Maeztu, F.A. 354
- Efecto de los dobles transportes sobre el bienestar animal en corderos comerciales en época cálida. - Rivero L., María G.A., Miranda-de la Lama G., García Belenguer S., Chacón G., Alierta S., Villarroel M. 357
- Producción forrajera de cuatro germoplasmas de *Pennisetum purpureum* en sistemas intensivos bajo corte. - Faría, J., González, B., Chirinos, Z. 360
- Efecto del aplazamiento del uso sobre la producción de forraje, contenido de proteína bruta y digestibilidad de la asociación buffel-*leucaena*. - Faría, J., Sánchez A. . . . 363
- Captura y flujo de carbono en silvopastoreo con bovinos en el trópico colombiano. - Giraldo L. A., Zapata, M., Montoya, E. 366

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Abad, M.....	27	Andrés, S.	654
Abadía, S.	618, 768	Angiolillo, A.	510
Abaurrea, E.	618	Anguita, B.....	33, 45
Abecia, J. A.	6, 9, 36	Anguita, M.....	189
Abecia, L.	225	Angulo, B.,.....	429
Abidi, W.	330, 666, 669	Antunes, V.	87, 90
Acero, I.	786	Añez, J.	270, 297
Acín, C.	603	Arana, A.	423, 768
Afonso, S.	579	Arbe, X.	222
Agea, I.	72, 486, 540, 543	Argamentoría, A.	153
Aguilar, M.	351, 354	Argente, M.J.	72, 486, 540, 543
Aguilera, J.F.....	192	Arias, M.	549
Aguinaga, M. A.	192	Arias-Álvarez, M.	42
Alabart, J.L.....	60	Arranz, J.J.	537
Albanell, E.	246	Arrebola, F. A.....	96
Albertí, P.....	666, 669, 762, 765, 768, 777, 780, 786	Arriaga, H.....	11
Alcalde, M. J.	657, 723, 759	Arroyo, J. M ^a	99, 105
Alenda, R.	402, 498, 522	Arruga, M. V.....	429
Alevia, A.	678	Arzoz, A.....	420
Alfonso, J.....	48	Asenjo, B.	738, 741
Alfonso, L.	420, 423, 618, 627	Atashparvar, N.	606
Alierta, S.	357	Auclair, E.	219
Almería de la Merced, S.	588	Avellanet, R.	516
Alonso, M.E.....	252, 255, 273, 615, 645	Ayadi, M.	285
Altarriba, J.	507	Bach, A.	162, 168, 648
Álvarez D.	639, 696, 699	Badaoui, B.	510
Álvarez, I.	375, 378	Badia, R.	219
Álvarez-Acero, I.....	735	Badiola, J.J.....	597, 600, 603
Álvarez, J. M.....	528	Balcells, J.	225, 249, 276
Álvarez, L.	537	Barragán, C.,.....	417, 456
Álvarez, S.....	735	Barroeta, A. C.....	210
Álvarez-Rodríguez, J....	309, 312, 705	Barrufet, M.	189
Álvarez-Sánchez, M. A. .	573	Bartolomé, D. J.....	252, 255, 273, 615, 645
Alves, E.	456, 471	Bartolomé, E.	438
Alvir, M. R.....	99, 102, 105	Bartolomé, P.....	531
Amills, M.....	459, 465, 483, 510	Baselga, M.	18, 528, 546
Amorena, B.	597, 600	Baucells, M. D.	210
		Bautista, J.	702
		Bech-Sabat, G.	78, 588
		Belanche, A.....	114, 276, 279
		Belenguer, A.	225

AUTORES	Páginas
Beltrán, J.A.....	723
Benavides, J.....	600
Beriain, M. J.	651, 708
Bermejo, C.	693
Bernués, A.	315, 318, 324, 327
Berriatúa, E.	597
Bertin, G.....	267
Biescas, E.	597, 600
Bispo, E.	771, 774
Blanch, E.....	21
Blanch, M.	117, 231
Blanco, M.	315, 318, 330, 666, 669, 675, 777, 780
Blanco, M. T.....	672, 750
Blandon, J.C.....	156, 267
Blasco, A.	390, 393, 486, 540, 543, 756
Bodas, R.	183, 240, 726
Bolea, R.	597, 603
Boluda, A.	594
Borrás, D.	59, 591
Bosch, L.	450, 453
Bouza, C.	381
Branco, J.	579
Brufau, J.....	195, 219
Brun, P.....	633, 636
Caballero de la Calle, J. R.	300, 744, 747
Caballero, J. V.....	744, 747
Caio, S.....	513
Caja, G.,.....	138, 177, 180, 246, 267, 285, 306, 369, 372
Calderón, L.	660
Calero, R.	531
Calle, M. I.	300, 744, 747
Calleja, L.	276
Calsamiglia, S.	81, 108, 111, 117, 129, 132, 156, 159, 165, 168, 228, 231

AUTORES	Páginas
Calvete, C.....	576, 591, 594
Calvo, J. H.	60, 504, 591
Calvo, J.L.	738, 741
Campo, J.L.	435, 489, 492
Campo, M.M.....	717, 720, 723, 753, 786, 789
Cáncer, J.	597
Cánovas, A.....	441
Cantalapiedra, G.	120
Cañeque, V.....	735, 786
Carabaño, M. J.	522
Caravaca, F.	510
Carné, S.	246, 306
Carrasco, S.	666, 705, 777, 780
Carril, J. A.....	684
Carrilho, M. C.	753
Carrizosa, J.	510
Carro, M. D.	126, 243
Casado, E.	681
Casals, R.....	138, 177, 180, 246
Casanovas, A.	33
Casao, A.	6, 9, 36
Casas, C.	633, 636
Casas, M.	609
Casasús, I.	309, 312, 315, 318, 330, 666, 669, 675, 777, 780
Casellas, J.....	321, 399, 417, 441, 447
Castañares, N.	186
Castelló, A.	231
Castillejos, L.	108
Castillo, V.	285
Castro, J.	381
Castro, T.	729, 732
Catalá, M.....	33, 786
Catalán, O.	786
Cebrián-Pérez, J. A.	6, 9, 12, 15
Cepero, R.....	723

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Cerisuelo, A.....	189	de Andrés, D.	600
Cerqueira, E.	87, 90, 612	de Andrés, X.	597
Cervantes, I.....	438	de Coca-Sinova, A.	216, 264
Cesari, V.....	756	de la Barra, R.	537
Chacaltana, A.	33	de la Fuente, G.	114, 276
Chacón, G.	357	de la Fuente, J.	735
Chapullé, J. L. G.....	687	de la Fuente, L. F.....	303
Chávez, L. R.....	261	de la Fuente, M. A.	171
Chico, M.	678	de la Roza-Delgado, B.	147, 153
Chirinos, Z.....	360, 519, 525	de Mercado, E.....	627, 678, 681
Chirino-Trejo, M.....	606	de Pedro, E.	630
Choque-López, J. A.....	210	del Álamo, M.	729, 732
Cienfuegos, S.....	561, 564, 567	Delfa, R.	675, 723
Cilla, I.	723, 786	Delgado, J. A.	591
Cimadevilla, C.	660	Denli, M.	156
Ciria, J.	270, 297, 738, 741	Dervishi, E.....	60
Ciriza, J.	600	Devant, M.....	168, 648
Climent, A.	390	Díaz, D.	213
Cocero, M.J.	60	Díaz, I.....	411, 441, 465
Coelho, A.	579	Díaz, M. T.	690, 693, 735
Colás, C.	9, 12, 15	Díaz, P.	549, 558
Collantes, F.	591	Díaz-Molina, M.....	594
Contreras, A.	600	DiCostanzo, A.	117
Contreras, G. E.	525	Díez, P.	561, 564, 567
Cordero, G.	621, 624, 639, 642, 696, 699	Díez-Baños, P.....	549, 558
Corral, J.M.....	414, 477, 480, 513	Díez-de la Varga, C.	594
Cortell, C.	39	DiLorenzo, N.	117
Costa, M. C.	87, 90	Doce, R. R.....	282
Costa, M. L.....	612	Dochao, J.	333, 783
Coy, P.	30	Domínguez, J.C.....	27
Crespo, H.	600	dos Santos, J.	204
Creus, E.	204, 258	Duch, X.	246
Cruz-Rojo, M. A.....	573	Duran-Montgé, P.	207
Cuevas, F. J.	333, 783	Egozcue, J.	423
Dacal, V.	561, 564, 567	Eguinoa, P.	351, 354
Dávila, S. G.	435, 489, 492	Estany, J.....	450, 453
Daza, A.	294, 336, 621, 624, 639, 642, 696, 699	Estellé, J.....	408, 456, 468, 474
		Estellés, F.....	345
		Esteve, E.	195
		Esteve-García, E.	207
		Estrada, R.	591, 594

AUTORES	Páginas
Ezpeleta, J.C.	627
Faleiro, A. G.	165
Fandiño, I.	267
Fandiño, J. I.	228
Fantova, E.	291
Faría, J.	360, 363
Fernández de Ahumada, E.	144
Fernández, A.	456, 462, 468, 675
Fernández, A. I.	456, 462, 468
Fernández, B.	75, 726
Fernández-Díez.	726
Fernández, E.	570
Fernández, G.	567
Fernández, I.	375, 378
Fernández, J.	381
Fernández, M.	123, 240
Fernández, N.	555
Fernández, R.	249
Fernández-Perea, M. T.	522
Ferrando, A.	516
Ferreira, M.	579
Ferret, A.	132, 165, 168, 228
Fina, M.	321
Flamarique, F.	420, 627
Flores, C.	138, 177, 180, 267, 285
Flores, E.	24
Flores, L.	678
Folch, J.	60
Folch, J.M.	408, 474, 486, 540, 543
Fondevila, M.	114, 135, 225
Fonseca, C.	33
Fontecha, J.	81, 159
Forcada, F.	6, 9, 36
Francesch, A.	738, 741
Francisco, I.	558
Franco, D.	771, 774
Frutos, P.	171, 282

AUTORES	Páginas
Fuentes, M. C.	81, 129, 132, 159
Fuentetaja, A.	348
Gabarró, M.	453
Gadea J.	30, 51, 54
Galindo, I.	603
Gallardo, D.	459, 465
Garbayo, J.M.	57
García, A.	96, 681
García, C. B.	429
García, F.	219
García, J. C.	528
García, J.J.	252, 255, 273, 615, 645
García, L.A.	405
García, M. D.	690
García, M. L.	72, 543, 546
García, N.	856
García-Belenguer, S.	357
García-Cachán, M. D.	663
García-García, R.M.	42
García-González, R.	240
García-Ispierto, I.	78
García-Martínez, A.	324, 327
García-Mengual, E.	48
García-Paloma, J. A.	84
García-Rodríguez, A.	429
García-Roselló, E.	48
García-Torres, S.	672, 750
García-Vázquez, F.	30, 51, 54
Garrido, A.	144, 630, 702
Gasa, J.	189, 201
Gatica, M. C.	3
Gaudioso, V.	252, 255, 273, 615, 645
Ghirardi, J. J.	306, 369, 372
Gil, M. G.	435, 489, 492
Giorgetti, H. D.	528
Giráldez, F. J.	174, 183, 237, 282, 654, 726
Giraldo, L. A.	126, 243, 366
Glaría, I.	600
Gómez de Segura, A.	201, 210

AUTORES	Páginas
Gómez, E.	678, 681
Gómez, E. A.	339, 342, 432
Gómez, F.	192
Gómez, L.	273
Gómez, M. D.	438, 759
Gómez, M. J.	429
Gómez-Cortés, P.	171
Gómez-Izquierdo, E.	621
González -Alvarado, J. M.	216, 264
González, A.	81, 159
González, B.	360
González, E.	261
González, J.	99, 102, 105
González, J. S.	237, 240
González, L.	771, 774
González, L. A.	168
González, M. A.	438
González, M. T.	147
González-Casquet O.	96
González-Crespo, J.	480, 513
González-Fernández, B. J.	96
González-Fernández, C.	663
González-Recio, O.	402, 495
González-Sánchez, D.	216
Gonzalo-Orden, J.M.	186
Gordón, A.	93
Goyache, F.	375, 378
Gracia, J.	597
Gracia, M. I.	213
Granizo, J.	786
Grant, G.	582
Grimal, A.	339, 342, 432
Grúas, C.	429
Grullón, L.	54
Guerrero, J.E.	144, 630, 702
Gumbao, D.	51
Gutiérrez, A.	213
Gutiérrez, J. P.	495, 375, 378
Gutiérrez-Adán, A.	51, 54

AUTORES	Páginas
Guzmán, J.L.	3
Hart, K. J.	279
Hermes, R. G.	201
Hernández, F.	498
Hernández, F. I.	93, 477, 480, 513
Hernández, P.	756
Hernández-Jover, M.	369, 372
Hervás, G.	171, 174, 186, 282
Horcada, A.	657, 723, 759
Huertas, G. G.	498
Humada, M. J.	660
Hunter, R. H. F.	63
Huntley, J.F.	582
Ibáñez-Escriche, N.	399, 426
Iborra, A.	219
Iglesias, A.	684
Iglesias, C.	609
Iguacel, F.	687
Incera, J.M.	300
Indurain, G.	651, 708
Insausti, K.	651, 708
Isabel, B.	621, 699
Izquierdo, D.	33, 45
Izquierdo, M.	414, 477, 480, 513
Izquierdo, S.	597
Jackson, F.	582
Jiménez, M.	333, 783
Jiménez-Hernando, M. A.	480
Jiménez-Macedo, A.R.	45
Jiménez-Moreno, E.	216, 264
Jimeno, V.	729, 732
Jordana, J.	510, 516
Joy, M.	330, 666, 669, 675, 705, 762, 765, 777, 780
Juárez M.	657, 759
Juárez-Iglesias, M.	171
Jurado, J.J.	504
Laborda, P.	390

AUTORES	Páginas
Lahoz, F.....	762
Láinez, M.	345
Lara, P.	717, 723, 786
Latorre, M. A.....	687
Lauridsen, C.....	207
Lauzurica, S.	735
Lavara, R.....	18, 546
Lavín, P.....	174, 183, 654
Lázaro, R.....	198, 216, 222, 264, 348
Leginagoikoa, I.....	597
Lizardo, R.....	195
Lomba, C.....	549
Lombardía, V.	84
López de Maturana, E. ...	495
López, A.....	630
López, C.....	561, 564, 567
López, J.....	186
López-Serrano, J.....	552
López, M.	753
López, S.	123, 183, 237, 240
López-Béjar, M.....	42
López-Bote, C. J.....	621, 624, 639, 642, 696, 699
López-Campos, O.	174, 726
López-Gatius, F.	57, 63, 78, 588
López-Parra, M.M.	672, 750
Lorenzo, P. L.....	42, 75
Lucas, N.,	600
Lucientes, J.	591, 594
Luján, L.	597, 600
Luque, A.....	657
Lurueña-Martínez, M. A.	711
Luzón, M.	552
Mach, N.....	648
Maeztu, F. A.	351, 354
Mainar, R. C.	606
Malo, J.M.....	597
Manrique, E.....	288
Manso, T.....	729, 732
Manteca, X.....	165, 168

AUTORES	Páginas
Mantecón, A.R.	171, 174, 183, 186, 282, 654, 726, 729, 732
Manzanilla, E. G.	189, 201
Marco-Jiménez, F.....	39
María, G. A.	357, 717, 720
Marín, C.	345
Marín, F.	429
Marmi, J.	516
Márquez, O.	519
Martín, A. I.....	120
Martín, L.....	261
Martín, R.	294
Martín, R. A.	96
Martínez, A.....	660
Martínez, B.....	663, 690, 693
Martínez, J.C.....	405
Martínez-López, M. A. ..	84, 345
Martínez, M.	417
Martínez-Giner, M.	471
Martínez, M. E.....	243
Martínez, M. G.....	87, 90, 612
Martínez, P.	219
Martínez-Fernández, P. ...	423
Martínez-Portela, P.....	381
Martínez-Fernández, A. .	153
Martínez-Royo, A.	591
Martínez-Trancón, M. ...	384, 414, 477, 480, 531, 534
Martínez-Valladares, M.	570
Martín-García, A. I.....	279
Martino, A.....	3
Martín-Orúe, S. M.	204, 258
Martín-Peláez, S.	258
Martín-Tereso, J.	108
Matás, C.....	30
Mateos, G. G.	198, 216, 222, 264, 348
Mateos, S.	384, 414, 477, 480
Mateu, E.....	204, 210, 258
Mateus, E. F.	210

AUTORES	Páginas
Maza, M. T.....	291
Meana, A.....	552, 555
Medrano, A.....	24
Mendizábal, J. A.....	618, 675, 768
Mendoza, N.....	15
Mercadé, A.....	408
Mercado, E.....	624
Merchán, M.	486, 540, 543
Merino, P.	111
Miguel, J. A.....	738, 741
Millán P.....	75
Miranda, M. A.	591, 594
Miranda-de la Lama, G.....	357, 717, 720
Mocé, E.	21, 39
Mocé, M. L.....	390
Mogas, T.....	33, 45
Molina, E.	120
Molinero, C.....	693
Molist, F.	201
Monleón, E.	603
Monserrat, L.	771, 774
Monteagudo, L. V.....	429
Montoya, E.	366
Monzón, M.	603
Morales, R.	219
Moreno, C.....	507
Moreno, T.	660, 771, 774
Morrondo, P.	549, 558, 561, 564, 567
Mota, M.	225
Moumen, A.....	120
Moya, D.	132, 228
Muela, E.....	717, 723
Muelas, R.....	72, 486, 540, 543
Muiño-Blanco, T.....	6, 9, 12, 15, 36
Mungóí, M.	138, 177, 180
Muñoz, G.	417
Muñoz, I.	489
Muriel, A.,.....	66, 69
Newbold, C.,J.....	279
Newbold, J.,R.....	81, 159
Nicodemus, N.....	75

AUTORES	Páginas
Nieto, R.	192
Nogareda, C.....	588
Noguera, J.L.....	399, 411, 417, 465, 468, 471
Ojeda, A.	474
Olaizola, A.M.....	288, 324, 327
Olivares, A.....	621, 624, 639, 642, 696, 699
Oliveira, J.C.....	87, 90, 612
Oliver, M.,A.....	735
Olleta, J.L.	717, 720, 723, 786
Olmeda, A.,S.....	555
Oregi, L.,M.	249
Osorio, C.	672, 750
Ouarti, M.	99, 105
Ovilo, C.....	417, 462, 468
Pabón, M.....	588
Padilla, J. A.....	384, 414, 477, 480, 531, 534
Pagès, N.	591
Painceira, A.....	549
Palacín, I.	6
Palacio, J.....	309, 312
Palacios, C.	303, 711
Palacios, M.....	102
Panadero, R.	561, 564, 567
Panea, B.	666, 705, 762, 765, 780
Paramio, M. T.....	33, 45
Pardo, M.....	558
Pardos, L.....	291
Parejo, J. C.	384, 414, 477, 480, 531, 534
Parés, P. M.	516
Pascual, M.	393
Paz, A.....	558
Pedreira, J.	549
Peinado, J.....	627
Peiró, R.	486, 540, 543
Peláez, J.....	27
Pena, R. N.....	408, 411, 441, 465, 471

AUTORES	Páginas
Peña, J. C.....	744, 747
Peñalver, J.....	552
Peralta, B.....	258
Pereda, N.	75
Pérez, A.	597
Pérez, B.	135
Pérez, C.	735
Pérez, D.	144, 630, 702
Pérez, J.F.	156, 189, 201, 204, 258
Pérez, J.L.	330, 636
Pérez, M.....	147
Pérez, M.M.....	597, 600
Pérez, N.	771, 774
Pérez, V.	282
Pérez-Cabal, M. A.	396, 498
Pérez-Enciso, M.	408, 474
Pérez-García, J.	573
Pérez-Guzmán, M. D....	501
Pérez-Pardal, L.	375, 378
Pérez-Pé, R.,	6, 9, 15
Picard, B.....	255, 645
Piedrafita, J.	321
Pla, M.	393
Polvillo, O.	657
Porrás, C. J.....	633, 636
Portilla, F. J.	384, 414, 477, 500
Posado, R.,.....	252, 255, 273, 615, 645
Prat-Cuffi, J.M.,	459, 465
Presa, P.	147
Prieto, M. T.	435
Prieto, N.	654, 726
Purroy, A.....	675, 768
Quintanilla, R.	399, 411, 426, 441, 456, 459, 465
Rabasco, A.,.....	384, 414, 477, 480, 531, 534
Ramió-Lluch, L.	24
Ramírez, H.	59

AUTORES	Páginas
Ramírez, O.....	414, 459, 465
Ramón, M.	501
Ramos, S.	243
Ranilla, M. J.....	126, 243
Rebollar, P. G.....	42, 75
Reina, R.,	597, 600
Reixach, J.	426, 450, 453, 465
Resconi, V. C.	789
Revilla, I.	711, 714
Revilla, R.....	309, 312, 315, 318, 687
Rey, A.....	624
Rey, A. I.	639
Richardson, R. I.....	789
Rico, M.	525
Ríos-de Álvarez, L.....	582
Ripoll, G.	666, 669, 675, 687, 705, 762, 765, 777, 780
Risco, A.....	93
Rivero, L.....	357, 717, 720
Roa, I.	513
Rodríguez, A.	624, 678, 681
Rodríguez, A. B.	174, 183
Rodríguez, C.	456, 462, 468
Rodríguez, C. A.....	99, 102
Rodríguez, C. M.	105
Rodríguez, G.....	528
Rodríguez, J.....	513
Rodríguez, M. C.	417
Rodríguez, R.	528
Rodríguez-Alcalá, L. M. .	81, 159
Rodríguez-Gil, J.E.	24
Rodríguez-Ramilo, S. T.	381
Rojo-Vázquez, F. A.....	552, 555, 570, 573
Romaguera, R.....	33, 45
Román, M. T.	27
Romero, F.....	759
Royo, L.J.	375, 378
Rubio, B.....	690

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Ruiz de la Torre, J.L.	165, 168	Serrano, A.	66, 69, 93
Ruiz, S.	30, 54	Serrano, B.	57
Safaa, H. M.	222	Serrano, M.	522
Salado, S.	156	Serrano, M.P.	198, 222, 348
Salama, A. A. K.	246, 267, 306	Sierra, I.	723
Salazar, E.	597	Silió, L.	408, 462
Salazar, J.	384, 414, 477, 480	Silva, M. T.	333, 783
Salcedo, G.	141, 150, 234	Silvestre, M. A.	48
Saldo, J.	267	Soler, J.	426
Salomó, J.	195	Soret, B.	423, 768
Salvador, I.	48	Spanghero, M.	111
San Miguel, B.	660	Suárez, F.	84
San Primitivo, F.	537	Suárez, J. L.	558
Sanabria, C.	750	Such, X.	285
Sánchez J.,	213	Tejedor, M. T.	429
Sánchez, A.	363, 369, 372, 408, 417	Tejerina J. I.	333, 783
Sánchez, C.	81, 159	Tejerina, D.	672
Sánchez, L.	660, 684	Tejero, C.	162
Sánchez, M,	690	Tejido, M. L.	126, 243
Sánchez, M. J.	690, 693	ter Wijlen, H.	108
Sánchez, P.	60	Terré, M.	162
Sánchez-Andrade, R.	549, 558	Theil P. K.	207
Sanjoaquín, L.	687	Tibau, J.	426
Sansegundo, M.	30	Tomàs, A.	417, 468, 471
Sansinforiano, M. E.	384, 414, 477, 480, 531, 534	Tor, T.	450, 453
Santacreu, M. A.	390, 486, 540, 543	Toral, P. G.	282
Santolaria, P.	63	Toro, M. A.	381
Santos, J.E.	81, 159	Torres, A.	345
Sanz, A.	57, 309, 312, 315, 318, 705	Torres, R.	96
Sanz, E.	621, 627, 678, 681	Uriarte, J.	576
Sañudo, C.	717, 720, 723, 735, 786	Urquía, J.J.	333, 783
Sarriés, V.	651, 708	Urrutia, B.	510
Sarto i Monteys, V.	591	Valcárcel, F.	555
Sayed, S.	768	Valderrábano, J.	576
Serradilla, J. M.	438, 510	Valencia, D.G.	198, 222, 348
		Valera, M.	438, 657, 759
		Vaquero, M.	693
		Vara-del Río, M.P.	570
		Vargas, J.E.	123, 237
		Vargas, M. A.	603
		Varona, L.	387, 399, 411, 415, 426, 441, 447, 465, 507

AUTORES	Páginas
Vázquez, L.	564, 567
Vázquez, M. A.	684
Vega, S.	6
Velarde, A.	648
Velasco, S.	333, 78
Vicente, F.	153
Vicente, J. S.	18, 39, 147, 432, 546
Vieira e Brito, A. N.	87, 90, 612
Vieira, C.	663, 690, 693
Vieira, J.	87, 90
Viguera, J.	420, 627
Villalba, D.	453
Villaroel, M.	357

AUTORES	Páginas
Vitto, R.	270, 297
Viudes de Castro, M. P.	39, 432
Vivar-Quintana, A. M.	711, 714
Wallace, R. J.	240
Yagüe, G.	50
Yaici, S.	396
Yániz, J.L.	57, 63, 78
Yañez-Ruiz, D.R.	123, 276, 279
Yáñez, J.	36
Zamudio, A.	288
Zanfi, C.	111
Zapata, M.	366
Zarazaga, L. A.	3
Zidi, A.	285, 483

Reproducción

EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE FOTOPERIODO Y/O MELATONINA DURANTE EL ANESTRO ESTACIONARIO SOBRE PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL EN CAPRINOS MEDITERRÁNEOS

Gatica, M.C., Guzmán, J.L., Martino, A.*, Zarazaga, L.A.

Universidad de Huelva, Carretera de Palos de la Frontera s/n, 21819, Huelva, España
*Ceva Salud Animal. C/ Carabela La niña, 12, 5ª Planta, 08017 Barcelona, España

INTRODUCCIÓN

La estacionalidad reproductiva es un factor limitante en la producción caprina. Este mecanismo fisiológico conlleva una disminución de la actividad reproductiva durante la primavera y el verano, periodo que se denomina anestro estacionario. En las hembras se manifiesta con una disminución de la actividad ovulatoria y en los machos con una reducción de su libido y calidad seminal. Este periodo de inactividad reproductiva puede modificarse si los animales son sometidos a tratamientos con melatonina exógena o alterando determinadas condiciones ambientales como el fotoperiodo.

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar el efecto de la administración de melatonina exógena y el efecto de la combinación de fotoperiodo artificial de días largos y posterior tratamiento con melatonina exógena, sobre parámetros de producción y calidad seminal de machos caprinos mediterráneos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dos experimentos fueron llevados a cabo en años consecutivos para evaluar el efecto a corto plazo de la utilización de implantes de melatonina y la combinación de tratamiento fotoperiódico de días largos y administración de implantes de melatonina al final del mismo.

Ambos experimentos se realizaron en las dependencias de la planta experimental de la Universidad de Huelva, latitud 37º 15' N.

Experimento 1:

Se utilizaron 11 machos caprinos adultos que fueron distribuidos en dos lotes. El 18 de marzo del 2005, 7 machos recibieron 3 implantes subcutáneos de melatonina Melovine® (grupo M) y los 4 restantes fueron utilizados como lote control (grupo C). Estos animales se encontraban en condiciones de fotoperiodo natural.

Experimento 2:

Se utilizaron 11 machos caprinos adultos que fueron distribuidos en dos lotes. El 14 de noviembre de 2005 un grupo de 6 machos fue sometido a un tratamiento de fotoperiodo artificial de días largos (16 horas de luz-8 horas de oscuridad) durante 98 días. El 20 de Febrero de 2006 se les administró 3 implantes subcutáneos de melatonina Melovine® a cada uno de ellos (grupo FM). En dicho experimento otros 5 machos actuaron como testigo (grupo T) que no recibió ningún tratamiento de luz suplementario ni tratamiento hormonal.

Metodología general:

En ambos experimentos los grupos fueron equilibrados de acuerdo al peso vivo y tamaño testicular.

Mensualmente se evaluaron los parámetros de producción y calidad seminal. Para ello, los 8 primeros días de cada mes se dividieron en dos periodos de 3 días consecutivos de colectas, separados por dos días de descanso.

El semen fue recolectado utilizando vagina artificial. Los machos disponían de 5 minutos para eyacular, desde el momento de presentación a una hembra estrogenizada.

Los parámetros evaluados fueron:

a) Producción espermática: fue calculada midiendo el volumen y la concentración espermática.

b) Velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$): velocidad media de la cabeza espermática a lo largo de su trayectoria.

c) Velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m/s}$): velocidad media de la cabeza espermática a lo largo de la línea recta que une la primera posición en el análisis y la última.

d) Linealidad (LIN, %): linealidad de la trayectoria curvilínea ($\text{LIN}=\text{VSL}/\text{VCL} \times 100$).

Todos estos parámetros fueron analizados mediante un sistema computerizado de análisis seminal (CASA, Sperm Class Analyzer, Microptic, Barcelona, Spain).

La evaluación de los resultados se realizó a partir del mes y medio y a los dos meses y medio post aplicación del implante de melatonina, que correspondería a los meses de mayo y junio en el experimento 1 y a los meses de abril y mayo del experimento 2. Se eligieron estos momentos ya que desde un punto de vista de explotación comercial sería cuando estos machos deberían ser utilizados para llevar a cabo las cubriciones.

Se calculó la media \pm s.e. de cada uno de los parámetros en estudio. Se analizó el efecto del tratamiento con melatonina (experimento 1) o fotoperiodo-melatonina (experimento 2) sobre los parámetros anteriormente mencionados así como las posibles diferencias entre los lotes dentro de cada uno de los meses estudiados. Estos análisis se llevaron a cabo utilizando un análisis de varianza excepto para la variable LIN en la que se realizó un análisis de χ^2 . Para ello se utilizó el paquete estadístico SPSS (SPSS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A) EXPERIMENTO 1 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE MELATONINA EXÓGENA SOBRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL

La tabla 1 muestra las medias \pm s.e. de cada una de las variables analizadas, así como los resultados de los factores estudiados. Se observó un efecto significativo de la utilización de implantes de melatonina sobre la producción espermática ($P<0,05$), de forma que el lote implantado tuvo una mayor producción de semen con respecto al lote control. Estos resultados contrastan con los obtenidos por Kaya *et al.* (2000) en moruecos y, sin embargo, son similares a los obtenidos por Delgadillo *et al.* (1991) en machos cabríos sometidos a ciclos cortos de tratamiento fotoperiódico.

No se observó efecto del tratamiento con melatonina exógena sobre los parámetros de motilidad espermática. En relación con este hecho, existen pocos resultados en la bibliografía internacional que demuestren la efectividad de este tratamiento tanto sobre la producción espermática como sobre los parámetros de motilidad seminal.

Tabla 1: media \pm s.e. de producción espermática (espermatozoides/eyaculado), Velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), Velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m/s}$) y Linealidad (LIN, %) para el lote tratado con melatonina (M) y control (C).

LOTE	Producción (esp./eyac.)	VCL, $\mu\text{m/s}$	VSL, $\mu\text{m/s}$	LIN, %
M (n=7)	5430,78 \pm 608,68a	91,89 \pm 7,73	68,81 \pm 5,54	68,68 \pm 5,36
C (n=4)	2988,79 \pm 516,77b	99,36 \pm 9,72	71,51 \pm 7,36	66,71 \pm 5,36

Letras diferentes (a,b) en la misma columna indican diferencias significativas $P<0,05$.

B) EXPERIMENTO 2 EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A DÍAS LARGOS Y POSTERIOR APLICACIÓN DE MELATONINA EXÓGENA SOBRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL

La tabla 2 muestra las medias \pm s.e. de cada una de las variables analizadas, así como los efectos de los factores estudiados. En este caso no se observó efecto del tratamiento fotoperiódico junto con la melatonina exógena sobre la producción espermática, si bien la producción de semen en los animales tratados supuso una mejora de un 22,9% con respecto al lote testigo. Estos resultados son similares a los obtenidos por Delgadillo *et al.* (2001) en un estudio en el que sometieron a machos criollos a un tratamiento fotoperiódico de días largos y posterior utilización de implante de melatonina.

Sin embargo, en este caso el tratamiento utilizado provocó diferencias entre los lotes, siendo más elevados para el lote tratado en el caso de VCL y VSL y no existiendo diferencias en el caso del % de LIN. Estos resultados son similares a los obtenidos durante el periodo de actividad reproductiva trabajando con machos de raza Payoya en unas condiciones y manejo similares a las del presente experimento (Zarazaga *et al.*, resultados no publicados).

Tabla 2: media \pm s.e. de producción espermática (espermatozoides/eyaculado), Velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), Velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m/s}$) y Linealidad (LIN, %) para el lote tratado con fotoperiodo y melatonina (FM) y testigo (T).

LOTE	Producción (esp./eyac.)	VCL, $\mu\text{m/s}$	VSL, $\mu\text{m/s}$	LIN, %
FM (n=6)	6642,26 \pm 525,47	112,57 \pm 2,64a	82,02 \pm 2,57a	72,55 \pm 1,24
T (n=5)	5406,57 \pm 714,52	101,34 \pm 3,84b	72,97 \pm 3,05b	72,28 \pm 1,64

Letras diferentes (a,b) en la misma columna indican diferencias significativas $P < 0,05$.

Estos resultados demuestran que durante el anestro estacionario la utilización de implantes de melatonina permite una mejora de la producción espermática y que la combinación de tratamiento fotoperiódico de días cortos previo a la colocación de los implantes, además de incrementar la producción espermática permite lograr unos parámetros de calidad seminal que serían similares a los observados durante el periodo de actividad reproductiva en razas caprinas mediterráneas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado gracias al proyecto del Ministerio de Educación y Ciencia INIA RZ2004-00006-C02-01 y PETRI 95-0964.OP.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Delgadillo, J. A., Carrillo, E., Moran, J., Duarte, G., Chemineau, P., Malpoux, B. 2001. Induction of sexual activity of male creole goats in subtropical northern Mexico using long days and melatonin. *Journal of Animal Science*, 79:2245-2252.
- Delgadillo, J.A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1991. Decrease in the seasonality of sexual behavior and sperm production in bucks by exposure to short photoperiodic cycles. *Theriogenology*, 36:755-770.
- Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M.B., Haliloglu, S. 2000. Influence of melatonin implantation on sperm quality, biochemical composition of the seminal plasma and plasma testosterone levels in rams. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151:1143-1146.
- SPSS, 1999. Manual del Usuario Versión 14. 0. SPSS Inc., Chicago, pp. 548.

EFFECTO DE LOS IMPLANTES DE MELATONINA EN LA MOTILIDAD DEL SEMEN DE MORUECO DE RAZA RASA ARAGONESA EN EPOCA DE ANOESTRO

Casao, A.^{a,b}, Vega, S.^b, Palacín, I.^a, Pérez-Pé, R.^b, Cebrián-Pérez, J.A.^b, Muiño-Blanco, T.^b, Abecia, J.A.^a, Forcada, F.^a

^a Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. adriana@unizar.es

^b Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El empleo de melatonina en ovino es un eficaz método para el control reproductivo. No obstante, hay menos estudios sobre el efecto del tratamiento con melatonina sobre la fertilidad del morueco. Un reciente estudio de nuestro grupo demostró un aumento del perímetro escrotal del morueco y la mejora de los parámetros reproductivos de las ovejas cubiertas con machos implantados con melatonina en anoestro (Palacín *et al.*, 2006), pero no hay estudios concluyentes del efecto de la melatonina en las características seminales.

MATERIAL Y METODOS

Los animales empleados son 4 moruecos raza Rasa Aragonesa, pertenecientes a la Unidad de Biología y Fisiología de la Reproducción y estabulados en el Servicio de Experimentación de la Universidad de Zaragoza. A dos de ellos se les colocaron tres implantes de melatonina de 18 mg el 23 de Febrero de 2006 (Melovine, Ceva Santé Animale, Libourne, France) en la oreja izquierda, y los otros dos constituyen el grupo control.

Se estudió el segundo eyaculado de estos animales, recogido en días alternos durante 120 días tras la colocación del implante, desde el 1 de Marzo al 23 de Junio de 2006, de forma separada. El semen se trasladó al laboratorio a 37°C, donde se realizó una dilución 1/100 en medio bifase (sacarosa 0,25 M, Hepes 10 mM, hidróxido potásico 2 mM, glucosa 5 mM, sodio fosfato monobásico 0,5 M y EGTA 100 mM) para evaluar su motilidad.

Para estudiar los parámetros de motilidad se empleó un Sistema Computerizado de Análisis Seminal (PROISER): en un portaobjetos previamente atemperado se colocó una gota de 6 µl de la dilución seminal, se cubrió con un cubreobjetos también atemperado, y se estudió con un microscopio de contraste de fase con pletina térmica atemperada a 37°C, que está conectado a una cámara de video, a su vez conectada a un ordenador con el programa de análisis seminal.

De cada muestra de semen se estudiaron dos gotas, y se tomaron cinco imágenes por cada gota, de forma que de cada muestra de cada grupo de animales se estudiaron 10 imágenes. En todas las imágenes se estudiaron los siguientes parámetros: porcentaje de espermatozoides estáticos, móviles progresivos y móviles, velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR), índice de oscilación (WOB), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batida de la cola (BCF).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento con melatonina en los machos produjo un aumento en el porcentaje de espermatozoides móviles progresivos, sin que se aumentara el porcentaje de espermatozoides móviles totales. Este aumento comenzó la quinta semana tras el implante, y alcanzó un máximo entre las semanas 9 y 10 tras el implante. El efecto finalizó alrededor de la semana 12 tras el implante (Fig. 1).

Este aumento de la motilidad ya había sido observada en estudios anteriores (Kaya *et al.*, 2000), pero en este caso la medida de la motilidad se hizo de forma subjetiva, mientras que en nuestro caso se empleó un sistema computerizado de análisis seminal. Este aumento de motilidad progresiva debería estar relacionado con una mejora de la fertilidad in vivo, ya que sólo los espermatozoides con buena motilidad progresiva pueden atravesar el cuello del útero (Mortimer, 1997).

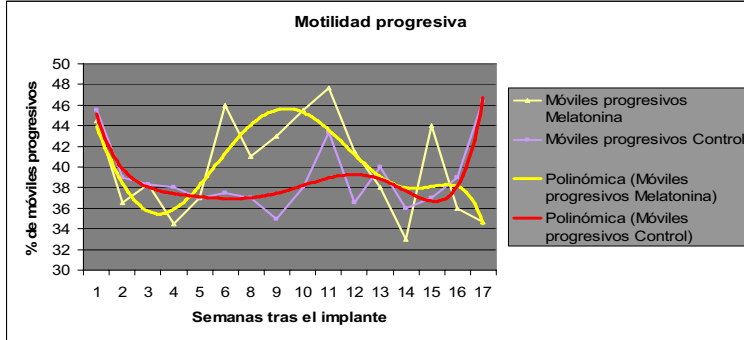


Figura 1: Evolución de la motilidad progresiva en función del tiempo.

De igual manera, el análisis computerizado nos permitió analizar las características del movimiento de los espermatozoides de ambos grupos de animales, y vimos que, junto con la motilidad progresiva, hubo un aumento de la VCL (Fig. 4) y la ALT (Fig. 2) de los animales tratados frente a los control, a la vez que se produjo un descenso de la VSL, VAP (Fig. 4), LIN (Fig. 3), STR y WOB, y no varió la BCF. Estos cambios se produjeron cuando la variación en la motilidad progresiva alcanzó su punto máximo, alrededor de las semanas 9 - 10, y se seguían manteniendo cuando finalizó el experimento; además, estas diferencias fueron debidas a los cambios en los espermatozoides clasificados como rápidos, pero no de los medios ni los lentos.

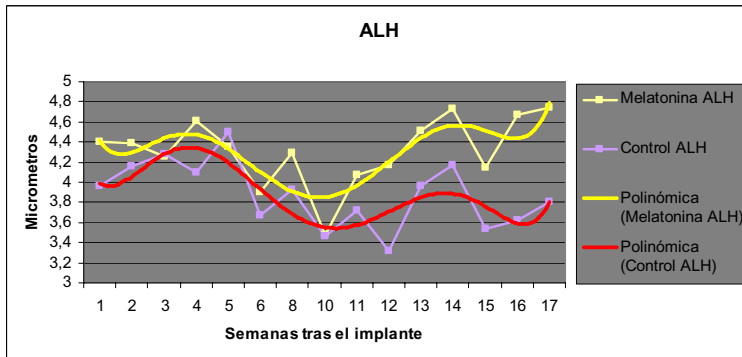


Figura 2: Variación del valor de ALH en función del tiempo.

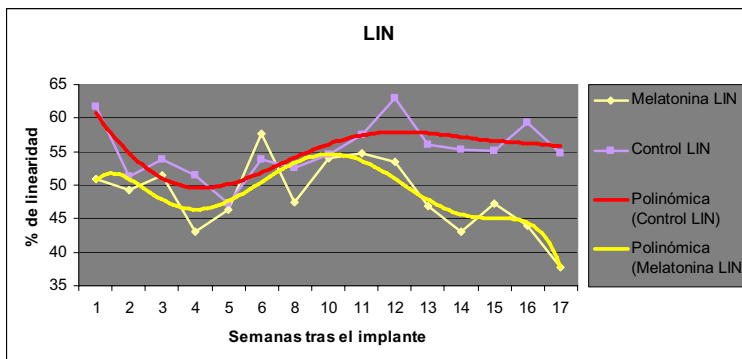


Figura 3: Evolución del porcentaje de linealidad en función del tiempo.

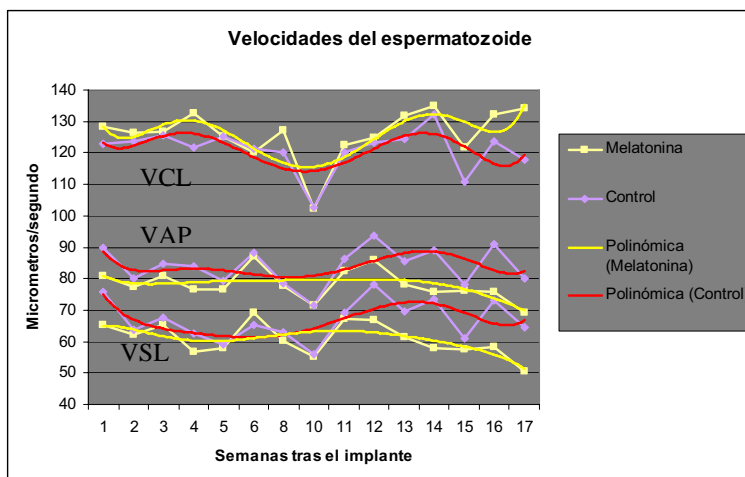


Figura 4: Variación de la VCL, VAP y VSL de los espermatozoides rápidos.

En un reciente estudio realizado con ganado caprino (Abdelwahab *et al.*, 2006), se observaron variaciones estacionales en las características cinemáticas del espermatozoide, de forma que en anoestro aumentan los valores de VAP y LIN, efecto que en nuestro caso parece ser revertido con el tratamiento con melatonina exógena.

Además, según Mortimer y Maxwell (1999), un espermatozoide se considera hiperactivado cuando su VCL > 250 $\mu\text{m/s}$, su VSL $\leq 100 \mu\text{m/s}$, LIN $\leq 30\%$ y ALHmax $\geq 9.0 \mu\text{m}$. Es decir, que debe aumentar su VCL y su ALH, y disminuir su VSL y LIN, justo como ocurre con los espermatozoides de los animales tratados con melatonina. Esta hiperactividad se asocia con una disminución del riesgo de atrapamiento del espermatozoide en los pliegues de la mucosa del oviducto, mantiene el microambiente alrededor del espermatozoide, mejora de las posibilidades de contacto con el ovocito, y favorece la penetración del cúmulus y la zona pelúcida para la fertilización (Mortimer, 1997).

Los parámetros obtenidos en los espermatozoides de los animales implantados no alcanzaron los valores establecidos para considerarlos hiperactivados, ya que en condiciones normales (Mortimer *et al.*, 1998), sólo el semen incubado en condiciones de capacitación alcanza la hiperactividad, pero las variaciones producidas por la melatonina en los parámetros cinemáticos hacen que estos valores estén más cercanos a los parámetros de hiperactivación, y por tanto esta hiperactivación sea más fácil en el esperma de los animales tratados que en los control en época de anoestro, lo que podría explicar el aumento de fertilidad en condiciones de campo.

Trabajo financiado por los proyectos AGL 2004-00432 , AGL 2004-0282 y PIP 164/2005.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abdelwahab, D., Rivera, M., Rodriguez-Gil, J. and Rigau, T. (2006). *Reprod Domest Anim.* **41**(Suppl 2): 103.
- Kaya, A., Baspinar, N., Yildiz, C., Kurtoglu, F., Ataman, M. B. and Haliloglu, S. (2000). *Revue Méd. Vét.* **151**(12): 1143-1146.
- Mortimer, S. T. (1997). *Hum Reprod Update* **3**(5): 403-439.
- Mortimer, S. T. and Maxwell, W. M. C. (1999). *Reprod. Fert. Dev.* **11**(1): 25-30.
- Mortimer, S. T., Swan, M. A. and Mortimer, D. (1998). *Hum. Reprod.* **13**(8): 2139-2146.
- Palacin, I., Abecia, J. A., Forcada, F., Casao, A., Cebrian-Perez, J. A., Muino-Blanco, T., Palacios, C., Pontes, J. M., García, M. F. and Pontes García, J. M. (2006). *SEOC XXXI*, Zamora, Spain.

UNIÓN A ZONA PELÚCIDA DE ESPERMATOZOIDES OVINOS SELECCIONADOS POR SWIM-UP/DEXTRANO

Colás, C., Casao, A., Abecia, A., Forcada, F., Pérez-Pé, R., Cebrián-Pérez, J.A., Muiño-Blanco, T.

Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El espermatozoide de mamíferos recién eyaculado no puede fecundar al ovocito. Para que adquiera capacidad fecundante ha de sufrir una serie de procesos de tipo bioquímico y cambios en el patrón del movimiento del flagelo que le permiten al espermatozoide alcanzar la capacidad de sufrir la reacción acrosómica, mediante la cual liberará el contenido del acrosoma para poder fusionarse con el ovocito (Benoff, 1993; De Jonge, 1999; Yeagle, 1991). El proceso de swim-up/dextrano permite seleccionar espermatozoides libres de plasma seminal con alta motilidad y viabilidad (García-López *et al.*, 1996). En trabajos anteriores hemos demostrado que la tasa de fertilidad obtenida mediante inseminación intrauterina de muestras seleccionadas en ausencia de calcio y bicarbonato (SW-) fue significativamente mayor que la de muestras seleccionadas con ambos compuestos, cuando la ovulación y la inseminación no estaban bien sincronizadas (Grasa *et al.*, 2004). Con objeto de comprobar si esa diferencia podría deberse a que el proceso de swim-up con calcio y bicarbonato indujera la capacitación, en este estudio se han comparado muestras SW- a 0 horas y después de 3 y 4 h de incubación con 5% CO₂ a 39 °C, sin y con adición de agentes capacitantes. En todos los casos se ha valorado motilidad, integridad de membrana, estado de capacitación (mediante tinción con clorotetraciclina (CTC), y tasa de unión a zona pelúcida (ZBA). Además, y dado que hemos comprobado que la capacitación aumenta la fosforilación de residuos de tirosina de determinadas proteínas de la membrana espermática (Grasa *et al.*, 2004), hemos analizado los cambios en el patrón de fosforilación mediante Western-blotting.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la obtención del semen, mediante vagina artificial, se emplearon moruecos adultos entre 2 y 4 años, pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado selecto de la raza Rasa Aragonesa pertenecientes a ANGRA, estabulados en la Facultad de Veterinaria bajo condiciones nutricionales uniformes. Con el objetivo de eliminar las diferencias individuales, para cada ensayo, se utilizó una mezcla de los segundos eyaculados de cuatro moruecos. Los experimentos se realizaron manteniendo los animales con un periodo de abstinencia de dos días, de acuerdo con estudios previos (Ollero *et al.*, 1996).

La metodología utilizada tanto para la selección de las muestras de espermatozoides por un método de swim-up/dextrano, su evaluación, la inducción de la capacitación y su valoración mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC), la obtención de proteínas del plasma seminal y su aislamiento, así como la inmunodetección mediante Western-blotting, fue la descrita previamente (Pérez-Pé *et al.*, 2002), y la unión a zona pelúcida (ZBA) utilizando ovocitos homólogos según el protocolo descrito (Pérez-Pé *et al.*, 2000). El medio capacitante estaba compuesto por NaCl 100 mM, KCl 3,1 mM, NaHCO₃ 25 mM, CaCl₂·2H₂O 2 mM, NaH₂PO₄ 0,3 mM, MgCl₂·6H₂O 0,4 mM, HEPES 10 mM, piruvato sódico 1 mM, lactato sódico 21,6 mM, glucosa 5 mM, BSA 5 mg/ml, pH 7,2. La mezcla de aditivos contenía metil-b-ciclodextrinas 2,5 mM, teofilina 1 mM, cafeína 1 mM, ácido okadaico 0,2 µM, db-cAMP 1 mM. La motilidad espermática se valoró utilizando un Sistema Computerizado de Análisis Seminal (PROISER).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Fig. 1 refleja el estado de capacitación de espermatozoides seleccionados por un proceso de swim-up/dextrano en ausencia de calcio y bicarbonato (SW-) después de la adición de calcio y bicarbonato (control), y el efecto de la adición de agentes capacitantes (aditivos) y la incubación con 5% CO₂ a 39 °C. Puede observarse que la proporción de

espermatozoides capacitados en las muestras control no era muy alta (26,7%) y que aumentó ligeramente durante la incubación. Sin embargo, los aditivos produjeron un aumento muy significativo del porcentaje de espermatozoides capacitados inmediatamente después de su adición. Después de la incubación en condiciones capacitantes comprobamos que la proporción de capacitados se mantuvo mientras que el porcentaje de reaccionados aumentó.

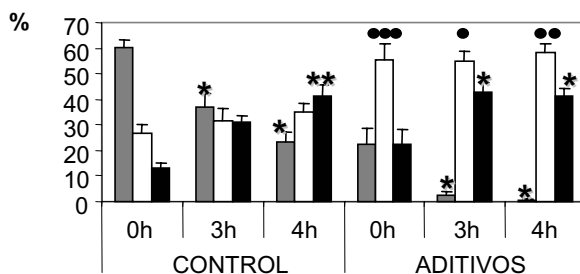


Fig. 1.- Valoración con CTC del estado de capacitación de espermatozoides ovinos. Porcentaje de no capacitados (□), capacitados (▒) y reaccionados (■) en muestras control (swim-up- con adición de 4 mM calcio y 25 mM bicarbonato), y en presencia de aditivos, incubadas 3 o 4 h con 5% CO₂ a 39 °C. Valores medios (% ± SEM, n=7). * P<0,001 respecto a muestras control a 0 h; ● P<0,05, ●●P<0,01, ●●●P<0,001 respecto a muestras con aditivos a 0 h.

Los cambios en los patrones de CTC no se corresponden con los cambios observados en la motilidad (Fig. 2). Los aditivos no produjeron un aumento inmediato de los espermatozoides con motilidad progresiva, aunque redujeron significativamente el número de estáticos producidos durante la incubación, aumentando los móviles (Fig. 2a). Es importante resaltar que el mayor porcentaje de rápidos se encontró en las muestras con aditivos después de 3 horas de incubación, significativamente mayor que el obtenido después de 4 horas (Fig. 2b).

La capacidad de unión a zona pelúcida de ovocitos homólogos (Tabla 1) de la muestra control (t=0) aumentó después de 3 horas de incubación (P < 0.05). Estos resultados indican que la muestra obtenida por swim-up no está capacitada, y que la adición de calcio y bicarbonato no produjo un aumento inmediato en la capacitación, lo que concuerda con los resultados de la tinción con CTC (Fig. 1). Los aditivos no produjeron un aumento inmediato de la unión a zona pelúcida, a diferencia de lo observado en el patrón de CTC. Sin embargo, después de 3 h de incubación, los resultados de ZBA fueron mayores en la muestra con aditivos, tanto respecto a la misma muestra a 0 h (P < 0,005), como a la muestra control a las 3 h de incubación (P<0,05). Estas diferencias fueron menores después de 4 h de incubación (Tabla 1).

Tabla 1.- Unión a zona pelúcida (ZBA) de ovocitos homólogos de muestras control y con aditivos

	Espermatozoides por ovocito		
	0 horas	3 horas	4 horas
Aditivos	5,25 ± 0,431 ^{b,c}	9,34 ± 0,918 ^a	7,38 ± 0,982
Control	4,7 ± 0,56 ^c	6,21 ± 0,418 ^b	5,78 ± 0,499

Valores medios de espermatozoides unidos por ovocito ± SEM (n=3). Diferentes superíndices tanto en filas como en columnas indican diferencias significativas: a, b: P < 0,005; b,c: P < 0,05.

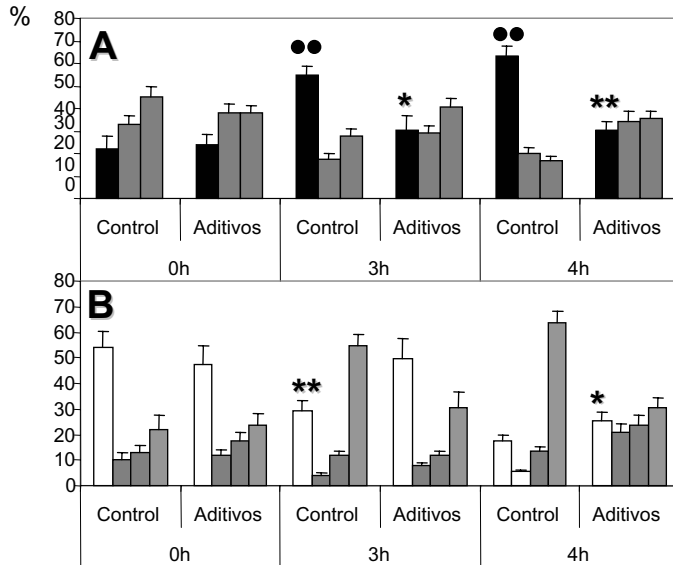


Fig. 2.- Parámetros de motilidad valorados con SCA. Muestras control (swim-up- con adición de 4 mM calcio y 25 mM bicarbonato), y en presencia de aditivos, incubadas 3 o 4 h con 5% CO₂ a 39 °C. Valores medios ± SEM (n=7). Porcentaje de espermatozoides A) estáticos (■), móviles no progresivos (▨), móviles progresivos (▩); B) rápidos (□), medios (▨), lentos (▩), estáticos (■). ●●P<0,001 respecto a muestras control a 0 h; * P<0,05 respecto a muestras control a 3 y 4 h.

El examen de los patrones de fosfotirosina mediante western-blotting puso de manifiesto que esta fosforilación aumenta después de 3 h de incubación en presencia de aditivos, tanto respecto a las muestras control como a las que llevan aditivos a 0 h. Además, se encontró una correlación significativa ($R=0,8534$, $P<0,05$) entre el aumento en la señal de fosfotirosinas y los resultados de ZBA.

En definitiva, los resultados de este estudio ponen de manifiesto que los espermatozoides seleccionados por swim-up/dextrano en ausencia de calcio y bicarbonato no están capacitados, y que la adición de activadores de la Proteín Kinasa A estimula la capacitación de espermatozoides ovinos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Benoff S. 1993. Hum Reprod 8: 2001.
- García-López N, Ollero M, Muiño-Blanco T, Cebrián-Pérez JA. 1996. Theriogenology 46: 141-151.
- Grasa, P., Pérez-Pé., R., Báguena, O., Forcada, F., Abecia, A., Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T. 2004. J Androl 25: 982-990.
- De Jonge CJ. 1999. J Androl 20: 463-473.
- Ollero M, Muiño-Blanco T, López-Pérez M, Cebrián-Pérez JA. 1996. Int J Androl 19: 287-292.
- Pérez-Pé, R., Fernández-Juan, M., Peleato, M. L., Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T. 2002. Mol Reprod Dev 61: 226-233.
- Pérez-Pé, R., Strom-Holst, B., Muiño-Blanco, T., Soderquist, L., Rodríguez-Martínez, H. 2000. 14th International Congress on Animal Reproduction (ICAR). Estocolmo, (Suecia), 2000: "Development of a sperm zona pellucida binding assay for ram semen".
- Yeagle PL. 1991. Biochimie 73: 1303-1310

Este trabajo se ha realizado gracias a las ayudas **CICYT-FEDER AGL 2004-02882**, **INIA RZ03-035**, **DGA GC-2005-027** and **CICYT-FEDER AGL 2005-02614**.

IDENTIFICACIÓN DE CALMODULINA E IMPLICACIÓN EN LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES OVINOS

Colás, C., Cebrián-Pérez, J.A., Muño-Blanco, T.
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La calmodulina (CaM) es la proteína intracelular mayoritaria de unión a calcio, mediando la regulación de una gran variedad de enzimas. Se ha propuesto que la calmodulina modula la captación de Ca^{2+} (Trejo y Mujica, 1990; Camatini *et al.*, 1991), y se ha localizado en la cabeza del espermatozoide, lo cual sugiere su participación en la capacitación y reacción acrosómica (Fraser *et al.*, 1995; Adeoya-Osiguwa y Fraser, 1996). La modificación de la CaM durante la capacitación también apoya su implicación en el proceso de capacitación (Trejo y Mujica, 1990).

Los complejos de Ca/CaM tienen gran importancia en la motilidad espermática (Brokaw y Nagayama, 1985). Está descrito que la fosforilación de proteínas es un proceso implicado en la regulación de la motilidad espermática, y diferentes fosfoproteínas han sido asociadas con el inicio y mantenimiento de la motilidad (Nakajima, 2005). Los complejos Ca/CaM pueden regular el estado de fosforilación a través de la activación de la proteína fosfatasa de tipo 2A (calcineurina) dependiente de Ca/CaM (Tash, 1988). Hay diversos trabajos que demuestran la importancia de las proteínas fosfatasas en el control de la motilidad espermática. Además, las proteínas implicadas en la motilidad son sustrato de la ruta de fosforilación de PKA, otro proceso que puede ser afectado por la CaM. Este modulador puede reducir la concentración intracelular de cAMP mediante la activación de fosfodiesterasas (Wasco y Orr, 1984) o incrementar los niveles de cAMP vía la activación de la adenilato ciclasa (Kopf y Vacquier, 1984).

Por otro lado, la CaM también está implicada en la regulación de los flujos de Ca^{2+} a través de las membranas (Peterson, 1983). La CaM ejerce su acción a través de la activación de la ATPasa de Ca^{2+} (Adeoya-Osiguwa y Fraser, 1996), enzima localizada en la región postacrosomal de la cabeza. El papel de esta enzima es mantener bajos los niveles intracelulares de Calcio mediante el bombeo de este catión al interior del acrosoma. La pérdida de afinidad de esta enzima por la CaM llevaría a una menor actividad de la misma, dando lugar a un aumento en la concentración intracelular del catión, lo cual se produce durante la capacitación.

El objetivo del presente trabajo fue identificar la CaM en el espermatozoide ovino, así como estudiar su implicación en el proceso de capacitación mediante el uso de inhibidores de la misma.

MATERIAL Y MÉTODOS

El semen utilizado fue una mezcla de los segundos eyaculados de cinco moruecos, de raza Rasa Aragonesa, pertenecientes a ANGRA, estabulados en la Facultad de Veterinaria bajo condiciones nutricionales uniformes. Los animales se mantuvieron 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 capacitación, y la inmunodetección de residuos de tirosina, serina y treonina mediante western blot, fue la descrita previamente por Pérez-Pé *et al.* (2002).

La identificación de dicha proteína mediante western blotting se hizo a partir de extractos proteicos obtenidos de lisados de espermatozoides seleccionados en swim-up con un tampón de extracción de Triton X-100. Tras la incubación en dicho tampón, el lisado se centrifugó y el sobrenadante y el sedimento se separaron. Las proteínas se

analizaron por electroforesis en condiciones no desnaturalizantes. La identificación de calmodulina se hizo mediante western blotting con un anticuerpo comercial (clones 6D4 + 1F11 + 2D1; Sigma).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calmodulina se identificó mediante western blotting en el sedimento y en el sobrenadante de extractos proteicos obtenidos tras la lisis con el detergente Triton X-100. En sobrenadante (fracción citosólica) se identificó una banda de menos de 30 kDa, correspondiente a la calmodulina (17 kDa) así como una banda de 30-35 kDa, que podría corresponder a un agregado de dos moléculas de calmodulina. El sedimento del lisado, conteniendo la fracción no citosólica, contenía sólo la banda de más alto peso molecular (30-35 kDa).

Con objeto de conocer la participación de la calmodulina en la capacitación, se estudió la influencia de dos inhibidores de la calmodulina, W7 y calmidazolium (CZ) en la capacitación. Se determinó el estado de capacitación mediante la tinción CTC y la inmunodetección de proteínas fosforiladas en tirosina, serina, y treonina en extractos proteicos obtenidos por SDS/calor. La incubación de espermatozoides ovinos en presencia de concentraciones crecientes de W7 y CZ dio lugar a un incremento de capacitados (patrón B) y reaccionados (patrón AR) analizado por CTC, si bien las diferencias significativas se observaron a las concentraciones más altas en ambos casos (Fig. 1).

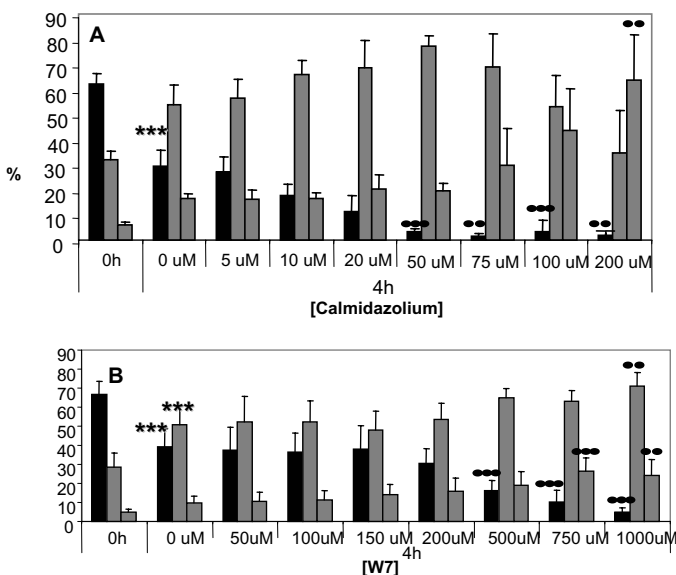


Fig. 1.- Valoración con CTC del estado de capacitación de espermatozoides ovinos. Porcentaje de no capacitados (■), capacitados (□) y reaccionados (▨) en presencia de concentraciones crecientes de calmidazolium (A) y W7 (B). Valores medios (% ± DS, n=5). *** P<0,001 respecto a muestras control (0 μM) a 0 h; ●●● P<0,001 respecto a muestras control (0 μM) a 4h; ●● P<0,01 respecto a muestras control (0 μM) a 4h; ● P<0,05 respecto a muestras control (0 μM) a 4h.

W7 es un inhibidor de la fosfodiesterasa activada por Ca/CaM. El fenómeno observado se podría explicar del siguiente modo: la inhibición de una fosfodiesterasa activada por calcio/caM tendría como consecuencia un incremento en los niveles de

cAMP intracelulares, y en consecuencia, una mayor actividad PKA. Esto se reflejaría en cambios en la tinción de CTC, aumentando los porcentajes de los patrones B (capacitados) y AR (reaccionados). La arquitectura lipídica de la membrana plasmática del espermatozoide durante la capacitación está controlada por fosforilación de una proteína vía PKA y desfosforilada por una proteína fosfatasa tipo 1 (Harrison y Miller, 2000). El aumento de los niveles de cAMP activaría la PKA, y se incrementaría la fluidez de la membrana plasmática, característica de la capacitación. La evaluación mediante CTC refleja la localización de calcio asociado a la membrana, lo cual es a su vez dependiente de las características de fosfolípidos de la bicapa (Fournier *et al.*, 2003). CZ es un bloqueante de canales de Ca^{2+} regulados por calmodulina. La consecuencia de este efecto sería una concentración de Ca^{2+} menor de la necesaria para el proceso de capacitación, lo cual se refleja en los patrones de CTC obtenidos con altas concentraciones de CZ.

Respecto a los patrones de fosforilación, la presencia de dichos inhibidores en el medio de capacitación indujo un incremento en la fosforilación en residuos de tirosinas de una proteína de aproximadamente 30 kDa. Los patrones de fosforilación de proteínas en residuos de treoninas no se modificaron. Sin embargo, se pudo apreciar un ligero incremento de la señal de fosforilación de proteínas en residuos de serina en muestras capacitadas en presencia de inhibidores de calmodulina (Fig. 2).

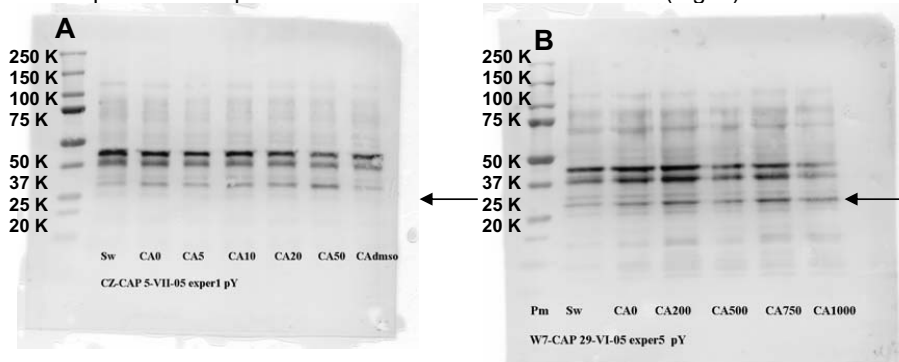


Fig. 2.- Patrón de fosforilación de tirosinas de espermatozoides ovinos incubados en condiciones capacitantes en presencia de concentraciones crecientes de inhibidores de calmodulina: (A) CZ, y (B) W7. La flecha señala la banda de 30 K cuya intensidad se incrementa en presencia del inhibidor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeoya-Osiguwa SA and Fraser LR. 1996. *Mol Rep dev* 44 (1): 111-20.
- Brokaw CJ and Nagayama SM. 1985. *J Cell Biol* 100 (6): 1875-83.
- Camatini M *et al.* 1991. *Mol Rep Dev* 28 (1): 62-9.
- Fournier *et al.* 2003. *J Androl* 24 (1): 104-12.
- Fraser LR *et al.* 1995. *Mol Rep Dev* 40 (2): 233-41.
- Harrison DA and Miller NG. 2000. *Mol Rep Dev* 55 (2): 220-8.
- Kopf GS and Vacquier VD 1984. *J Biol Chem* 259 (12): 7590-6.
- Nakajima A. 2005. *J Exp Biol* 208: 4411-8.
- Perez-Pé *et al.* 2002. *Mol Reprod Dev* 61: 226-233.
- Peterson RN *et al.* 1983. *Biochem Biophys Res Commun* 114 (1): 28-33.
- Tash JS. 1988. *J Cell Biol* 106 (5): 1625-33.
- Trejo R and Mujica A. 1990. *Mol Rep Dev* 26 (4): 366-77.
- Wasco WM and Orr GA. 1984. *Biochem Biophys Res Commun* 118 (2): 636-42.

Este trabajo se ha realizado gracias a las ayudas **CICYT-FEDER AGL 2004-02882, INIA RZ03-035, DGA GC-2005-027 and CICYT-FEDER AGL 2005-02614.**

VALORACIÓN DEL DAÑO EN EL DNA MEDIANTE TUNEL EN MUESTRAS CAPACITADAS DE ESPERMA OVINO

Pérez-Pé, R., Colás, C., Mendoza, N., Muiño-Blanco, T., Cebrían-Pérez, J.A.
Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular. Facultad de Veterinaria.
Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

Para que el espermatozoide de mamíferos adquiera capacidad fecundante ha de sufrir una serie de procesos bioquímicos, conocidos como capacitación, que le posibilitará llevar a cabo la reacción acrosómica y la fertilización del ovocito (Yanagimachi, 1994). Varios autores han observado ciertas características en el espermatozoide habitualmente relacionadas con el fenómeno de apoptosis en células somáticas (Weng *et al.*, 2002). Pero existe bastante controversia en cuanto a la relación entre la capacitación espermática y los marcadores apoptóticos (Gadella *et al.*, 2002). Uno de estos marcadores apoptóticos es la fragmentación del DNA. Para aclarar esta cuestión en el espermatozoide ovino, en el presente trabajo se estudió el daño en el DNA (mediante la técnica de TUNEL) en muestras incubadas en condiciones capacitantes (5% CO₂, 39 °C), en ausencia y presencia de determinados aditivos. Se evaluó el estado de capacitación, la integridad de membrana y distintos parámetros de motilidad en cada una de las muestras a lo largo del tiempo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la obtención del semen, mediante vagina artificial, se emplearon moruecos adultos de entre 2 y 4 años, pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado selecto de la raza Rasa Aragonesa pertenecientes a ANGRA, estabulados en la Facultad de Veterinaria.

La separación del plasma seminal se realizó por un método de swim-up/dextrano (García-López *et al.*, 1996) en un medio compuesto por NaCl 100 mM, KCl 3,1 mM, 2 mM, NaH₂PO₄ 0,3 mM, MgCl₂·6H₂O 0,4 mM, HEPES 10 mM, piruvato sódico 1 mM, lactato sódico 21,6 mM, glucosa 5 mM y sacarosa 200 mM. Las células obtenidas se dividieron en 3 alícuotas que se incubaron en estufa con 5% CO₂ a 39 °C. Al primer tipo de muestras no se les añadió nada (SWIM-UP); a las segundas se les adicionaron NaHCO₃ 25 mM, CaCl₂·2H₂O 3 mM y BSA 5 mg/ml como agentes capacitantes (CONTROL); y al tercer tipo de muestras se añadieron además una mezcla de aditivos (metil-b-ciclodextrinas 2,5 mM, teofilina 1 mM, cafeína 1 mM, ácido okadaico 0,2 µM, db-cAMP 1 mM) para evaluar su efecto sobre la capacitación (ADITIVOS).

La valoración del estado de capacitación se llevó a cabo mediante la tinción con clorotetraciclina (CTC) (Pérez-Pé *et al.*, 2002). La motilidad espermática se valoró utilizando un Sistema Computerizado de Análisis Seminal (PROISER) y la viabilidad mediante la doble tinción de fluorescencia con CFDA y PI (Harrison y Vickers, 1990). El daño en el DNA se estudió mediante la técnica de "TUNEL" (Terminal deoxynucleotidyl Transferase mediated-dUTP Nick End Labelling) (Li y Darzynkiewicz, 1995) usando el kit "In situ cell death detection kit, fluorescein", de Roche y siguiendo las especificaciones y del fabricante.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 refleja el efecto de la mezcla de aditivos sobre la capacitación espermática. Este efecto consistió en un aumento en el porcentaje de espermatozoides capacitados inmediatamente después de su adición (29,0% vs. 42,3%). Esta diferencia fue aumentando a lo largo de todo el tiempo de incubación, si bien las diferencias significativas se observaron al comparar la suma de espermatozoides capacitados y reaccionados entre las muestras control y en presencia de aditivos a partir de la hora de incubación. Al cabo de 4 horas, esta suma fue de 67,34% en muestras control y de 97,67% en presencia de aditivos (P<0,01).

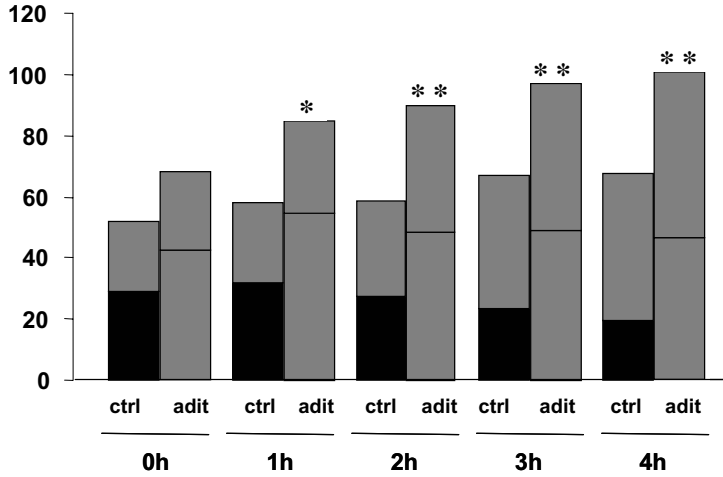


Fig. 1.- Valoración con CTC del estado de capacitación de espermatozoides ovinos. Muestras control (ctrl.: swim-up con adición de 4 mM calcio y 25 mM bicarbonato), y en presencia de aditivos (adit), a lo largo del tiempo de incubación con 5% CO₂ a 39°C. (■) y (▒): % de espermatozoides capacitados; (□) y (▒): % de espermatozoides reaccionados acrosómicamente. (n= 4). Los * indican diferencias significativas con respecto al control a la misma hora: *P<0,05, ** P<0,01.

El aumento del daño en el DNA en muestras capacitadas (Fig. 2) no parece deberse solamente al efecto del tiempo de incubación en estufa (5% CO₂, 39 °C), ya que las muestras incubadas en ausencia de agentes capacitantes (swim-up) presentaron un menor porcentaje de espermatozoides Tunel-positivos que las capacitadas, tanto control como en presencia de aditivos (30,0% vs. 41,4 y 39,4% respectivamente), aunque estas diferencias no fueron significativas.

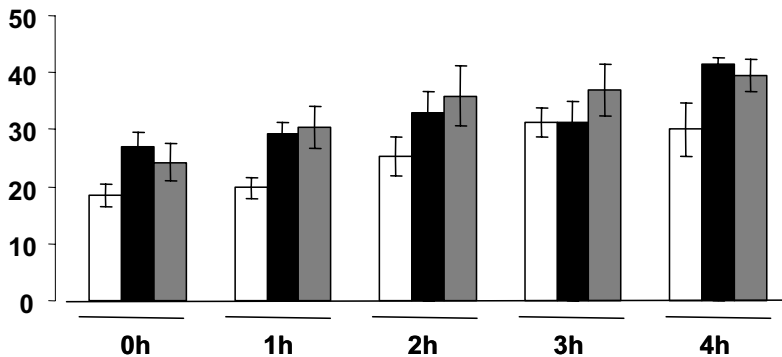


Fig. 2.- Valoración del daño a nivel del DNA mediante la técnica de Tunel en espermatozoides ovinos. Muestras swim-up (□), control (swim-up con adición de 4 mM calcio y 25 mM bicarbonato) (■), y en presencia de aditivos (▒), a lo largo del tiempo de incubación con 5% CO₂ a 39°C. Valores medios (% de espermatozoides positivos a Tunel ± SEM, n= 4).

Los cambios en los patrones de CTC no se corresponden con los cambios observados en la motilidad (Tabla 1). La mayoría de los parámetros analizados fueron disminuyendo progresivamente conforme aumentaba el tiempo de incubación en todas las muestras. La motilidad progresiva disminuyó más lentamente en las muestras control que en el resto. En cuanto a la viabilidad (integridad de membrana) descendió en torno a un 18% en muestras swim-up y un 25% en muestras capacitadas, aunque las diferencias no fueron significativas. Comparando el daño a nivel de membrana (células PI+) con el daño a nivel del DNA (células Tunel+), se encontró una correlación de 0,81 (r^2 , $P < 0,0001$), si bien el porcentaje de células con membrana dañada fue siempre mayor que el de células con DNA alterado, para cada tiempo de incubación.

Tabla 1.- Evolución de la motilidad progresiva y de la viabilidad a lo largo del tiempo de incubación en condiciones capacitantes en muestras swim-up, control y con aditivos.

T° incubación	SWIM- UP		CONTROL		ADITIVOS	
	Mot. Progr.	Viabilidad	Mot. Progr.	Viabilidad	Mot. Progr.	Viabilidad
0 horas	48,52 ± 3,1 ^a	67,00 ± 4,4	38,45 ± 5,0	65,62 ± 4,4	38,12 ± 5,8 ^a	63,25 ± 7,1
1 horas	37,70 ± 3,8 ^a	65,62 ± 3,7	41,77 ± 3,4	57,87 ± 6,1	29,02 ± 5,2	57,87 ± 8,8
2 horas	30,80 ± 4,2	65,50 ± 1,7	33,66 ± 7,9	56,50 ± 2,5	21,10 ± 7,8	56,25 ± 6,4
3 horas	21,76 ± 2,9	63,00 ± 2,5	26,46 ± 7,3	45,33 ± 4,3	11,43 ± 4,6	52,33 ± 7,3
4 horas	8,13 ± 1,3 ^b	54,75 ± 5,5	20,60 ± 8,2	48,75 ± 3,8	8,86 ± 2,8 ^b	46,50 ± 1,8

Valores medios ± SEM (n=4). Diferentes superíndices en columnas indican diferencias significativas: a, b: $P < 0,05$.

En definitiva, los resultados de este estudio sugieren que el proceso de capacitación lleva asociado un efecto de daño en el DNA relacionado generalmente con fenómenos apoptóticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gadella, B.M., Harrison, R.A. 2002. Biol. Reprod. 67, 340-350.
- García-López N, Ollero M, Muiño-Blanco T, Cebrián-Pérez JA. 1996. Theriogenology 46, 141-151.
- Harrison, R.A.P, Vickers, S.E. 1990. J. Reprod. Fertil. 88, 343-352.
- Li, X., Darzynkiewicz, Z. 1995. Cell Prolif. 28, 571-579.
- Pérez-Pé, R., Grasa, P., Fernández-Juan, M., Peleato, M. L., Cebrián-Pérez, J. A., Muiño-Blanco, T. 2002. Mol Reprod Dev 61, 226-233.
- Weng, S.L., Taylor, S.L., Morshedi, M., Schuffner, A., Duran, E.H., Beebe, S., Oehninger, S. 2002. Mol. Hum. Reprod. 8, 984-991.
- Yanagimachi, R. 1994. Zygote 2, 371-372.

Este trabajo se ha realizado gracias a las ayudas **CICYT-FEDER AGL 2004-02882**, **INIA RZ03-035**, **DGA GC-2005-027** and **CICYT-FEDER AGL 2005-02614**.

ANÁLISIS CROMOSÓMICO EN MACHOS DE CONEJO. RESULTADOS PRELIMINARES

Lavara, R., Baselga, M., Vicente, J.S.

Dpto. Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera.

rlavara@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

La aneuploidía consiste en la pérdida o ganancia de cromosomas como resultado de problemas durante la mitosis o meiosis, que pueden alterar el balance genético y la pérdida de heterocigosidad (Goepfert *et al.* 2000). Además de las alteraciones numéricas, existen también alteraciones estructurales, que se pueden detectar mediante el uso de diferentes técnicas de bandeado cromosómico (Hayes *et al.* 2002). Normalmente la existencia de alteraciones en el número cromosómico provoca muerte embrionaria precoz o malformaciones graves, aunque en conejo se han observado cambios en el número cromosómico en células pertenecientes a embriones que posteriormente han dado lugar a individuos normales (Shi *et al.* 2004). Además se ha demostrado en diferentes especies que las alteraciones cromosómicas pueden incidir negativamente sobre la reproducción y a su vez pueden ser transmitidas a la descendencia, así en porcino se ha observado que más del 50% de los verracos que muestran problemas reproductivos son portadores de anomalías cromosómicas (Gustavsson y Jonsson, 1992).

El objetivo del presente trabajo es determinar la existencia alteraciones durante la mitosis o meiosis en machos de conejo seleccionados que den como resultado alteraciones en el número de cromosomas, y su posible incidencia sobre los parámetros reproductivos y de calidad seminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 25 machos adultos de edades comprendidas entre los 8 y los 20 meses, pertenecientes a una línea seleccionada por velocidad de crecimiento durante el período de engorde (Línea R).

Se tomaron muestras de sangre de forma aséptica de la vena marginal de la oreja de cada uno de los machos. Para el cultivo se utilizó 0,5 ml de sangre completa con heparina y 10 ml de medio de cultivo cromosómico (PB_MAX, Invitrogen). Los cultivos se incubaron a 37°C y 5% CO₂ y 95% humedad, durante un total de 72 horas, 16 horas antes de terminar el cultivo se adicionó timidina (8mg/ml en PBS), se reincubó durante otras 4,5 horas más y posteriormente se adicionó colcemida (0,10µg/ml), y se reincubó de nuevo durante 20 minutos. Transcurridos los 20 minutos se procedió al *harvest* siguiendo el protocolo descrito por Yerle *et al.* (1987), y se prepararon los portas según el protocolo descrito por Henegariu *et al.* (2001). Una vez preparados los portas se observaron bajo el microscopio con contraste de fases a 100X, se fotografiaron 50 placas metafásicas completas de cada uno de los machos, que no presentasen solapamiento y no se presentasen fraccionadas. Las metafases fotografiadas se analizaron con la ayuda del software Leica CW4000.

Paralelamente a los estudios cromosómicos se realizaron análisis de producción y calidad seminal siguiendo el protocolo descrito por Lavara *et al.* (2005), además se tomaron los datos de fertilidad y prolificidad de cada uno de los machos. Para los análisis espermáticos se tomaron los datos de volumen, concentración, normalidad acrosómica, formas anormales, parámetros de velocidad y cinéticos del semen (ALH, BCF, VSL, VCL, LIN, MOT).

El porcentaje de partos se analizó mediante un análisis de Chi cuadrado (Statgraphics Plus). Para analizar si existían diferencias entre machos en el tamaño de camada al nacimiento y en los parámetros seminales, se realizó el correspondiente contraste del macho con anomalías frente a la media de los otros machos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 25 machos analizados únicamente uno de ellos presenta un 16% (8/50) de alteraciones en el número cromosómico. Las alteraciones encontradas son de dos tipos, tanto hiperploidía como hipoploidía cromosómica.

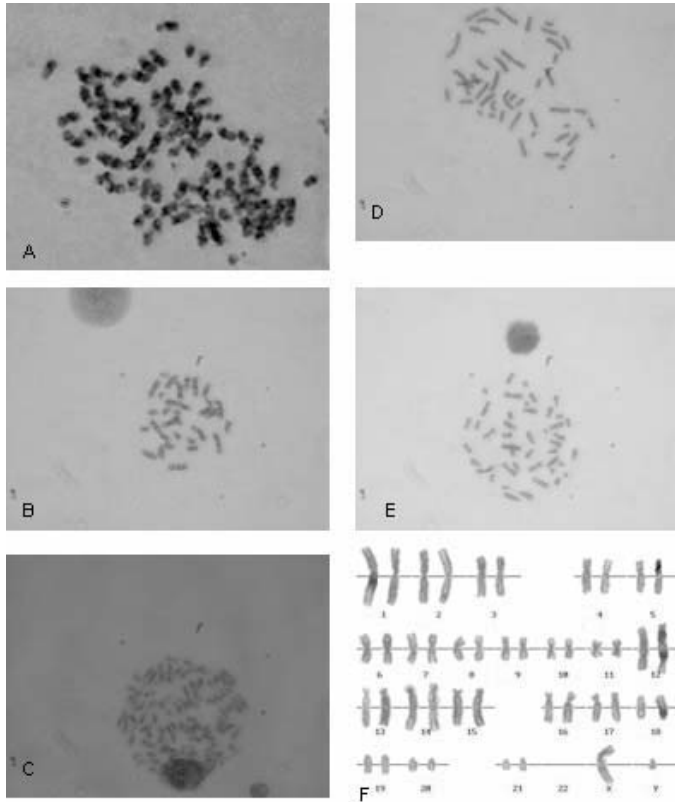


Figura 1: A, B, C: placas metafásicas que presentan alteración en el número cromosómico. D, E: placas metafásicas que presentan número cromosómico normal $2n=44$ (42, XY). F: cariograma normal de un macho de conejo.

La frecuencia de individuos con alteraciones en el número cromosómico (Figura 1) es de un 4%, superior a la encontrada para individuos normales, pero inferior para individuos transgénicos de la misma especie (2% y 28% respectivamente (Parkányi *et al.* 2004)). La aneuploidía puede ser generada por diferentes factores en los que podemos incluir diferencias en la mitosis o meiosis, anomalías en los centrosomas, duplicación, alteraciones en la condensación y cohesión cromosómica, centrómeros defectuosos (Goepfert *et al.* 2000), además el grado de aneuploidía varía dependiendo del origen de las células cultivadas, de su estabilidad al cultivo, del tipo de medio elegido y del tiempo de cultivo (Czepulkowski 2000).

Si comparamos los datos reproductivos del macho que muestra aneuploidía (macho A) con el resto de machos que pertenecen a la misma generación, no se observan diferencias significativas ni en el porcentaje de partos (57%, $n=910$), ni en el tamaño de camada al nacimiento entre el macho A y el grupo (Tabla 1). Sin embargo cuando comparamos las características seminales de los machos, observamos diferencias significativas para la variable ANOR ($33,32 \pm 4,71$, y $19,30 \pm 1,87$ para el macho A y el grupo, respectivamente ($P < 0,05$)) y la variable MOT ($55,97 \pm 6,26$ y $75,49 \pm 2,41$, para el macho A y el grupo ($P < 0,05$)), sin que existan diferencias en el resto de variables (Tabla 1).

Tabla 1. Tamaño de camada y parámetros seminales de los machos analizados.

	T.C.	VOL	CON	MOT	NAR	ANOR
N	477	89	88	85	81	81
Media.	8,01	0,60	145,8	72,97	89,00	21,21
S.D.	2,080	0,39	148,7	21,66	12,15	16,27
Min	1,0	0,05	0,0	0,0	50,0	3,0
Max	15,0	2,5	624,0	98,5	99,0	80,0

	VCL	VAP	VSL	LIN	STR	WOB	ALH	BCF
N	84	84	84	84	84	84	84	83
Media.	72,66	49,64	42,92	59,32	80,34	67,86	2,97	13,35
S.D.	19,28	15,12	14,73	15,95	10,48	15,21	1,19	2,54
Min	21,0	7,1	3,3	11,1	46,2	1,0	0,98	8,19
Max	131,4	88,1	78,5	83,9	93,0	88,6	9,9	26,06

n: número de datos; S.D.: desviación estándar; T.C.: tamaño de camada al nacimiento; VOL: volumen (ml); CON: concentración en millones de spz por ml; ANOR (%): porcentaje de espermatozoides anormales; NAR (%): porcentaje de acrosomas no dañados; MOT (%): porcentaje de espermatozoides móviles totales; VCL: velocidad curvilínea total (μ/s); VSL: velocidad rectilínea total (μ/s); VAP: velocidad media total (μ/s); LIN: índice de rectitud (%); STR: índice de linealidad (%); WOB: índice de oscilación (%); ALH: amplitud media del desplazamiento lateral (μ); BCF: frecuencia de batido del espermatozoide (Hz).

Los resultados reproductivos obtenidos en el trabajo son inferiores a los encontrados en la bibliografía cuando se utiliza el semen procedente de machos de esta misma línea para inseminar hembras híbridas en granjas comerciales (57% partos y 8,01 nacidos totales, frente a un 76% partos y 9,3 nacidos vivos, Lavara *et al.* (2005)). En cuanto a los parámetros seminales cabe destacar el mayor porcentaje de espermatozoides anormales y el menor porcentaje de motilidad mostrado por el macho A, frente al resto de machos, que podría plantear la incidencia de la aneuploidía sobre la correcta espermatogénesis.

Solo cabe indicar que los resultados obtenidos son preliminares y que se están realizando análisis de estos mismos machos para observar si se encuentran alteraciones estructurales en los cromosomas no visibles con tinción sólida cromosómica, mediante técnicas de bandedo y en un futuro posiblemente se realizarán pruebas FISH para intentar detectar microdeleciones en cromosoma Y.

BIBLIOGRAFÍA

- Czepulkowski, B. (2000). BIOS Scientific Publishers, Oxford.
- Goepfert, T.M., Mc Carthy, M., Kittrell F.S., Stephens C., Ullrich R. L., Brinkley B. R., Medina D. (2000). FASEB J. 14, 2221-2229.
- Gustavsson I., Jonsson L. (1992). Hereditas 117, 31-38.
- Hayes, H,m Rogel-Gaillard, C., Zijlstra, C., De Hann, N. A., Urien, C., Bourgeaux, N., Bertaud, M., Bosma, A. A. (2002). Cytogen. Genome Res. 98, 199-205.
- Henegariu, O., Heerema, A.N., Wright, L., Bray-Ward, P., Ward, D., Vance, G. (2001). Cytometry 43: 101-109.
- Lavara, R., Moce, E., Lavara, F., Viudes de Castro, MP., Vicente J.S. (2005). Theriogenology 64, 1130-1141.
- Parkányi, V., Chrenek, P., Rafia, J., Süvegová, K., Jurcik, R., Makarevich, A., Pivko, J., Hetényi, L., Paleyanda, R. K. (2004). Folia Biologica 50, 194-199.
- Shi, W., Dirim, F., Wolf, E., Zakhartchenko, V., Haaf, T. (2004). Biol. Reprod. 71, 340-347.
- Yerle, M., Echard, G., Gillois, M. (1987). Cytogenet Cell Genet 45, 5-9.

AGRADECIMIENTOS

A la doctora D^a Helène Hayes del INRA-Toulouse y al doctor D. Raúl Sánchez Sánchez del Departamento de Reproducción Animal del INIA-Madrid, por la ayuda prestada. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2004-02710.

PERDIDA DE VIABILIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES DE VERRACO A LO LARGO DEL PROCESO DE CRIOCONSERVACION

Blanch, E., Mocé, E.

IVIA- Centro de Tecnología Animal (Segorbe-Castellón). e-mail: emoce@ivia.es

INTRODUCCIÓN

Un alto porcentaje de espermatozoides resultan dañados irreversiblemente al ser sometidos a los protocolos de criopreservación actuales. Además, un elevado número de los espermatozoides que sobreviven presentan daños subletales, lo que obliga a aumentar el número de espermatozoides en las dosis de inseminación, a realizar inseminaciones intrauterinas y a acercar el momento de la inseminación al de la ovulación (Holt, 2000). Una de las estructuras más dañadas durante el proceso de criopreservación es la membrana plasmática, debido tanto al descenso de temperatura (que provoca cambios en la organización de los lípidos de la membrana) así como al estrés osmótico al que son sometidas durante el proceso. Los espermatozoides de verraco son extremadamente sensibles al descenso de la temperatura, por el bajo ratio colesterol:fosfolípidos que presenta su membrana (Holt, 2000). En otras especies con bajo ratio colesterol:fosfolípidos (toros, moruecos y caballos), se ha observado que la supervivencia de los espermatozoides al proceso de criopreservación mejora cuando son tratados con ciclodextrinas saturadas de colesterol (Combes *et al.*, 2000; Purdy y Graham, 2004; Morrier *et al.*, 2004).

El objetivo de este trabajo fue determinar en qué puntos del protocolo de congelación las membranas de los espermatozoides de verraco sufren un daño mayor, mediante análisis de viabilidad de los espermatozoides tras incubación (39°C, 3 horas) de las muestras de semen que habían completado diferentes fases del protocolo. También se determinó si el tratamiento de los espermatozoides con ciclodextrina saturada de colesterol (CLC) previamente a la criopreservación mejoró la viabilidad de las muestras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 10 eyaculados procedentes de seis verracos de raza Pietrain. La recolección se realizó mediante masaje manual. El protocolo general utilizado para la congelación fue el descrito por Gadea *et al.* (2005). El semen fue diluido 1:1 con Beltsville Thawing Solution (BTS, Johnson *et al.*, 2000) y transportado a temperatura ambiente (22°C) durante tres horas. La ciclodextrina saturada de colesterol (2-hidroxipropil- β -ciclodextrina) se preparó según el protocolo descrito por Purdy y Graham (2004). Se utilizaron tres alícuotas de semen: control (C), control negativo (CN; tratado con 2 mg metil- β -ciclodextrina/120 x 10⁶ espermatozoides 15 minutos antes del comienzo de la fase de incubación a 16°C) y tratados con CLC (CLC; 2 mg CLC/120 x 10⁶ espermatozoides 15 min antes de la fase de incubación a 16°C). Las muestras fueron enfriadas lentamente hasta 16°C durante 2 horas, centrifugadas posteriormente a 800 g durante 10 minutos a 16°C y resuspendidas con diluyente lactosa-yema de huevo (Westendorf *et al.*, 1975). En este punto un conjunto de muestras fue separado y se mantuvo a 16°C para su evaluación a las 24 h de conservación.

A continuación los espermatozoides (200 x 10⁶ espermatozoides/mL) fueron enfriados lentamente hasta 5°C durante 2h, tras lo cual se añadió diluyente lactosa-yema de huevo con 1,5% Orvus Es Paste y 9% glicerol (concentración final de 150x10⁶ espermatozoides/mL y 3% de glicerol). Después de esta fase otro conjunto de muestras dejó de ser procesado y se conservó a 5°C durante 24 h para su evaluación posterior.

El resto de las muestras fueron envasadas en pajuelas de 0,5 mL y congeladas a 4 cm sobre la superficie del nitrógeno líquido durante 20 min. La descongelación se realizó en baño de agua a 39°C, 30 seg. La viabilidad se evaluó por citometría de flujo, según el protocolo descrito por Purdy y Graham (2004). Los espermatozoides fueron teñidos con SYBR 14 y yoduro de propidio (PI) y se analizaron en un citómetro Coulter EPICS XL-MCL (Beckman Coulter Inc., Miami, FL) con un láser de argón a 488 nm. Se recogieron datos de fluorescencia de 10.000 eventos. La fluorescencia del SYBR 14 fue recogida en el sensor FL1 usando un filtro de paso de banda de 525 nm y la fluorescencia del PI se recogió en el sensor FL3 con un filtro de paso de banda de 620 nm. Las observaciones se realizaron a 0, 1 y 3 horas tras incubación de las muestras en baño de agua a 39°C.

El porcentaje de espermatozoides vivos se analizó mediante un procedimiento GLM (SAS) para observar si existían diferencias entre los tres tipos de tratamiento, entre las tres fases del protocolo de congelación y entre los tres momentos de la incubación a 39°C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El colesterol juega un papel muy importante en la regulación de la estructura y la funcionalidad de la membrana plasmática por su efecto en el comportamiento de cambio de fase de los fosfolípidos a través de su interacción con éstos (Holt, 2000). Así, la susceptibilidad al “cold-shock” es mayor en aquellas especies cuyos espermatozoides presentan un ratio colesterol-fosfolípidos bajo (Holt, 2000), como en el caso de la especie porcina. La adición de colesterol mejora la supervivencia de los espermatozoides de especies con bajo contenido en colesterol. No obstante, no se observaron diferencias entre los tratamientos (C, CN y CLC) en ninguna fase del protocolo durante la incubación a 39°C. Estos resultados son inesperados ya que, *a priori* y tal y como se observa en otras especies (Purdy y Graham, 2004; entre otros), los espermatozoides de verraco deberían beneficiarse del tratamiento con los CLC por su bajo ratio colesterol:fosfolípidos. En los escasos trabajos realizados con espermatozoides de verraco en los que se han utilizado ciclodextrinas los resultados parecen contradictorios (Zeng y Terada, 2000;2001; Galantino-Homer *et al.*, 2006). Quizás esta falta de respuesta sea debida a que el protocolo para la adición de estas sustancias fue similar al seguido en otras especies, y sea necesario modificar éste (adición en otras fases del protocolo, testar diferentes ciclodextrinas o variar las concentraciones de CLC) para observar mejoras tras la descongelación.

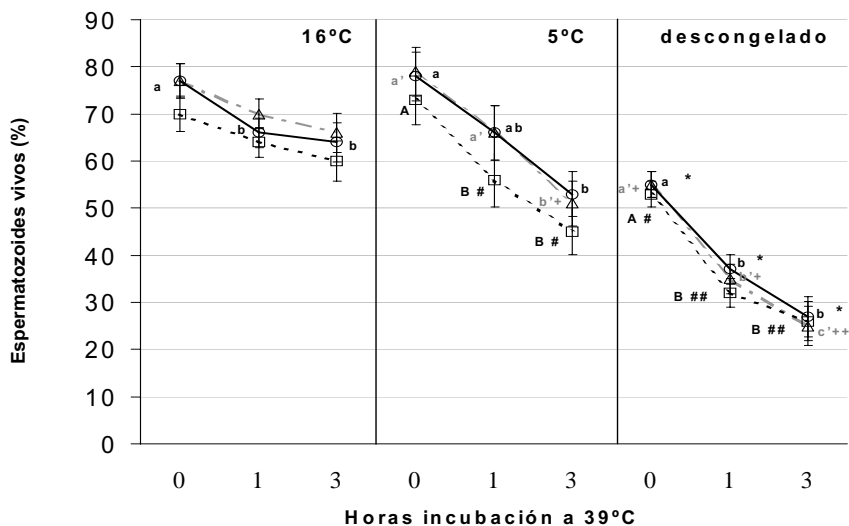


Figura 1. Porcentajes de espermatozoides vivos de verraco (y error estándar conjunto asociado) en muestras que han completado varias fases del protocolo de criopreservación [descenso de temperatura a 16°C (n = 8), a 5°C (n = 8) ó bien criopreservados (n = 10)], tras realizar varios tratamientos: los espermatozoides frescos [control (○), tratados con ciclodextrinas-control negativo (△), o tratados con ciclodextrina saturada de colesterol-CLC (□)], y ser incubados a 39°C durante tres horas.

(a', b', c'), (a, b) y (A, B) indican que, dentro de cada fase del protocolo de criopreservación, existen diferencias ($P < 0,05$) entre las horas de incubación a 39°C para los espermatozoides control, los control negativo o los tratados con CLC, respectivamente.

Los símbolos (+, ++), (*) y (#, ##) indican que, dentro de cada hora de incubación a 39°C, existen diferencias ($P < 0,05$) entre fases del protocolo de criopreservación (16°C, 5°C y criopreservación) para los espermatozoides control, control negativo o tratados con CLC, respectivamente.

En las muestras que completaron la fase de descenso de temperatura a 16°C, la viabilidad se mantiene a lo largo del período de incubación a 39°C, excepto en las muestras CN que sufren una caída significativa en el porcentaje de espermatozoides vivos en la primera hora (77 vs 66%; $P < 0,05$). Tras la fase de incubación a 5°C se mantiene la viabilidad en las muestras C y CN durante la primera hora de incubación a 39°C, pero se observa una disminución significativa (entre 25 y 28% de pérdida de viabilidad) cuando la incubación llega a las 3 horas. No obstante, para las muestras CLC esta pérdida de viabilidad es significativa tras la primera hora de incubación a 39°C (73 vs 56%; $P < 0,05$). En las muestras crioconservadas, esta disminución de viabilidad es ya significativa tras la primera hora de incubación en todos los tratamientos (entre 18 y 20% de pérdida de viabilidad), y en las muestras control el porcentaje de espermatozoides vivos desciende también significativamente en la hora 3.

Lógicamente, en todos los tratamientos se observa un menor porcentaje de espermatozoides vivos al inicio de la incubación (0 h) y tras 1 h de incubación a 39°C en las muestras crioconservadas que en las que han completado las fases de incubación a 16°C o a 5°C. Estos resultados corroboran los observados por Cremades *et al.* (2005) al comparar el porcentaje de espermatozoides móviles y vivos en los distintos pasos del protocolo de congelación de espermatozoides de porcino. Además, las muestras tratadas con CLC presentan también diferencias entre las fases de incubación a 16°C y a 5°C tras 1 h de incubación a 39°C. Tras tres horas de incubación a 39°C todos los tratamientos (excepto el CN) presentan un porcentaje de espermatozoides vivos significativamente menor en las muestras crioconservadas y en las conservadas a 5°C. Esta disminución de viabilidad que se observa tras la fase de 5°C y tras la crioconservación es posiblemente debida a los daños osmóticos que provocan la adición y eliminación de los crioprotectores (Guthrie *et al.*, 2002), así como a los cambios de transición de fase líquida a gel dependientes de la temperatura que inducen cambios en la organización lipídica de la membrana (Holt, 2000). Además, las muestras crioconservadas presentan todavía menor viabilidad debido a la exposición de los espermatozoides a choques osmóticos que resultan de la exposición de los mismos a condiciones anisomóticas como consecuencia de la congelación del agua extracelular y por daños mecánicos debidos a la formación de hielo intra y extracelular.

En conclusión, es recomendable realizar varias mediciones (nada más descongelar y tras incubación) para detectar adecuadamente el daño sufrido por los espermatozoides al someterlos a procesos que pueden afectar a su estructura y funcionalidad. La adición de CLC según este protocolo no mejoró el porcentaje de espermatozoides de verraco que sobreviven a la crioconservación, siendo necesario continuar con estudios para desarrollar el protocolo adecuado para su adición en esta especie.

Agradecimientos: financiado por el proyecto AGL 2006-07769 y fondos FEDER. Agradecemos a la explotación 'Los Golliznos' la donación de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Combes GB, Varner DD, Schroeder F, Burghardt RC, Blanchard TL. J Reprod Fertil 2000; Suppl 56:127-132.
- Cremades T, Roca J, Rodríguez-Martínez H, Abaigar T, Vázquez JM, Martínez EA. J Androl., 2005;26:610-618.
- Gadea J, Gumbao D, Matas C, Romar R. J Androl 2005;26:749-756.
- Galantino-Homer HL, Zeng WX, Megee SO, Dallmeyer M, Voelk D, Dobrinski I. Mol Reprod Dev. 2006;73:638-650.
- Guthrie HD, Liu J, Critser JK. Biol Reprod 2002;67:1811-1816.
- Holt WV. Theriogenology. 2000;53:47-58.
- Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WM. Anim Reprod Sci 2000;62:143-172
- Morrier A, Thériault M, Castonguay F, Bailey JL. Proceedings of the Society for the Study of Reproduction Meeting 2004. Vancouver, Canada. P 239 Abstr. 636.
- Purdy PH, Graham JK. Cryobiology 2004; 48:36-45.
- Westendorf P, Richter L, Treu H. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 1975;82:261-267.
- Zeng WX, Terada T. Reprod Fertil Dev 2000; 12:223-228.
- Zeng WX, Terada T. J Androl 2001;22:111-118.

EFFECTO DE LA REFRIGERACIÓN Y LA CONGELACIÓN EN LA ESTRUCTURA NUCLEOPROTEICA DEL ESPERMATOZOIDE PORCINO

Flores, E., Medrano, A., Ramió-Lluch, L., Rodríguez-Gil, J.E.
Unidad de Reproducción Animal, Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Barcelona.
Eva.flores@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los espermatozoides porcinos son muy sensibles al proceso de congelación-descongelación. Diferentes fases del proceso de criopreservación son potencialmente perjudiciales para el espermatozoide, como los lavados, las diluciones, los cambios de temperatura y los cambios osmóticos. En este proceso, el espermatozoide porcino sufre una serie de daños a nivel de la membrana plasmática, el DNA y otros orgánulos celulares como resultado del estrés osmótico, el shock térmico y la formación de hielo intracelular (Guthrie y Welch, 2005).

La evaluación de la integridad del DNA espermático es de gran interés ya que la intensidad de fragmentación del DNA se ha correlacionado con problemas de desarrollo embrionario. Espermatozoides con DNA dañado son aparentemente normales y son capaces de fecundar un ovocito, pero fracasan en el desarrollo embrionario (Silva y Gadella, 2006). Es por esto que se debe estudiar a fondo la integridad del DNA del espermatozoide.

El DNA de las células espermáticas maduras se encuentra fijado por la presencia de protaminas entre su estructura helicoidal. Las protaminas son proteínas básicas y pequeñas, ricas en arginina, que se unen al DNA y lo estabilizan mediante puentes disulfuro. La estabilización del núcleo espermático tiene lugar durante la espermiogénesis en dos fases. En una primera fase, las histonas son sustituidas por proteínas nucleares de transición. Y en la segunda fase, las protaminas sustituyen a las proteínas de transición, revistiendo el DNA y reempaquetándolo de manera muy condensada. Las protaminas son las proteínas clave involucradas en el empaquetamiento final del DNA del espermatozoide, y un proceso adecuado estabiliza el DNA y lo hace menos vulnerable al daño oxidativo.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de la refrigeración y la congelación en la estructura nucleoproteica del espermatozoide porcino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se utilizaron dosis seminales porcinas refrigeradas a 16°C. Estas dosis se sometieron a un proceso de congelación y descongelación. El medio de congelación utilizado fue el descrito por Kikuchi *et al.* (1998) que consiste en dos fracciones NSF-I (80% β -lactosa de 310 mM, 20% yema de huevo, 80 mg/L kanamicina) y NSF-II (92,5% NSF-I, 1,5% Equex Stem, 6% glicerol). La primera fase del protocolo de congelación consistió en diluir los espermatozoides con NSF-I y bajar la temperatura de 16°C a 5°C en unas 2 h. Una vez a 5°C el semen se rediluyó con el medio NSF-II para obtener una concentración 1×10^9 espermatozoides/mL y se envasó en pajuelas de 0,5 mL. La congelación de las pajuelas se hizo con un sistema automático en biocongelador programable (Computer Controlled Rate Freezer ICeCube 14S). La tasa de bajada de temperatura de 5°C a -5°C fue de 6°C/min, de -5°C a -80°C de 40°C/min, a -80°C se mantuvo durante medio minuto, y de -80°C a -150°C fue de 60°C/min. Una vez las pajuelas estuvieron a -150°C, se introdujeron en un tanque de nitrógeno líquido hasta el momento de procesarlas. La descongelación de las pajuelas se hizo introduciéndolas rápidamente en un baño a 37°C durante unos 20 segundos.

Para realizar el Western Blott se cogieron alícuotas de las muestras seminales en los tres puntos de estudio (fresco, refrigerado a 5°C y congelado-descongelado) y se centrifugaron a 600 g durante 10 min. El sobrenadante se descartó y los sedimentos se lavaron dos veces con tampón fosfato salino (PBS). Los sedimentos obtenidos se congelaron rápidamente con nitrógeno líquido y se guardaron a -80°C hasta el momento de procesarlos.

Los sedimentos se descongelaron y se resuspendieron en el tampón de homogeneización compuesto por 10 mM de Tris-HCl, 15 mM de etilendiaminotetraacético (EDTA), 150 mM de KF, 0,6 M de sacarosa, 14 mM de β-mercaptoethanol, 10 µg/mL de leupeptina, 1 mM de benzamidina y 1 mM de fenil metil sulfonil fluoruro (PMSF), y se homogeneizaron por sonicación. A continuación, los homogenados se centrifugaron durante 15 min a 10.000 g. Se recogieron los sobrenadantes y se midió la concentración de proteína por el método de Bradford (Bradford, 1976). Las muestras se dividieron en dos, y una parte se digirió con 40 µg/mL de DNasa I durante 2 h a temperatura ambiente. Seguidamente, se diluyeron las muestras, tanto las digeridas con DNasa I como las no digeridas, a 1:5 con el tampón de carga 5× que consiste en una solución de 250 mM de Tris (pH 6,8), 50 mM de ditiotreitol (DTT), 10% de dodecil sulfato sódico (SDS), 0,5% de Azul de Bromofenol y 50% de glicerol. Finalmente, las muestras se hirvieron durante 3 min y se conservaron a -20°C hasta el momento de cargarlas en el gel de electroforesis.

Se realizó una SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate- PolyAcrylamide Gel Electrophoresis*) con un gel de carga al 4% y un gel separador al 10% de acrilamida. Se cargaron un total de 20 µg de proteína en un gel de 0,75 mm. El tampón de electroforesis usado consistía en 192 mM de glicina, 25 mM de tris y 0,1% de SDS (pH 8,5), y se corrió a 170 V. A continuación se hizo una transferencia en membrana de nitrocelulosa a 100 V durante 45 min con un tampón de transferencia que consistía en 192 mM de glicina, 25 mM de tris y 20% de metanol. Seguidamente las membranas se bloquearon con el tampón de bloqueo que consistía en tampón tris salino con 0,05% de Tween-20 (TBST) y 3% de albúmina sérica bovina (BSA) durante 30 min a temperatura ambiente. Después se incubaron con el anticuerpo primario Protamina-1 diluido 1:1000 con tampón de bloqueo, y se dejaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Se realizó un control negativo incubando la membrana con el anticuerpo primario preincubado con el péptido de bloqueo durante 2 h a concentración 1:15. Pasado este tiempo se hicieron tres lavados de 5 min con TBST y se incubaron con el anticuerpo secundario específico antisuero de cabra conjugado con peroxidasa diluido 1:2000 en tampón de bloqueo. La presencia de proteína se observó mediante el uso del sistema de detección ECL-Plus y la exposición con películas fotográficas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El patrón de bandas de Protamina-1 obtenido mediante Western Blott de eyaculados frescos porcinos se vió alterado por la refrigeración y la congelación. En espermatozoides frescos se observaron 4 bandas específicas de aproximadamente 200 kDa, 50 kDa, 35 kDa y 25 kDa. La refrigeración de las muestras de 16°C a 5°C provocó un cambio en este patrón de bandas, dando lugar a 3 bandas de aproximadamente 200 KDa, 90 KDa y 65 KDa. La posterior congelación y descongelación de estos espermatozoides no originó nuevos cambios, manteniéndose este patrón de 3 bandas.

La digestión de los espermatozoides con DNasa I provocó un cambio sustancial en el patrón de bandas tanto de los eyaculados frescos como de los refrigerados y los congelados-descongelados. Este cambio observado se debe al hecho de que en nuestro protocolo no existe ninguna fase de purificación de las proteínas nucleares, y la homogeneización de las muestras no fue muy agresiva. Por lo tanto, las bandas que

obtuvimos no corresponden a la protamina aislada, sino que son agregados de DNA y protamina, ya que la digestión con DNasa I causó un cambio en el patrón de bandas.

Estos resultados sugieren que la congelación-descongelación de los espermatozoides porcinos induce una alteración en la interacción DNA/Protamina-1, y esta alteración se inicia en la fase de refrigeración de 16°C a 5°C.

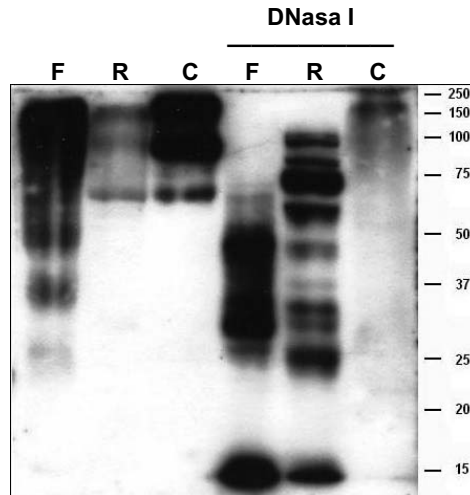


Figura 1. Patrón de bandas de Protamina-1 obtenido mediante Western Blott. F= Fresco; R= Refrigerado; C= Congelado.

BIBLIOGRAFIA

- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Guthrie HD, Welch GR. 2005. Impact of storage prior to cryopreservation on plasma membrane function and fertility of boar sperm. *Theriogenology* 63: 396-410.
- Kikuchi K, Nagai T, Kashiwazaki N, Ikeda H, Noguchi J, Shimada A, Soloy E, Kaneko H. 1998. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology* 50: 615-623.
- Silva PFN, Gadella BM. 2006. Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology* 65: 958-978.

EFFECTO DEL ADITIVO SEMINAL LECHON-PLUS® SOBRE LA FERTILIDAD Y PROLIFICIDAD DE CERDAS ADULTAS CON DOSIS SEMINALES CONSERVADAS EN REFRIGERACIÓN DURANTE 24 Y 48 HORAS.

Román, M.T.¹, Domínguez, J.C.², Abad, M.², Peláez, J.²

¹Área de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia. E-mail: teroman@agro.uva.es

²Reproducción y Obstetricia. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. 24071 León.

INTRODUCCIÓN

La adición de ciertas sustancias en semen como oxitocina, prostaglandina $F_{2\alpha}$ o cafeína puede producir incrementos en la fertilidad y prolificidad de cerdas adultas inseminadas artificialmente.

Muchos autores han utilizado aditivos seminales, para mejorar la fertilidad y la prolificidad como la oxitocina empleada por Sánchez *et al.* (1992), la prostaglandina $F_{2\alpha}$ empleada por Cheng *et al.* (2001) o los estrógenos empleados por Weitze *et al.* (1990). O las mezclas de oxitocina más prostaglandina $F_{2\alpha}$ como Dzuik (1987) u oxitocina más Lutalyse más estrógenos como Willenburg *et al.* (2003).

Lechon-Plus® es un aditivo seminal existente en el mercado que combina agentes oxitócicos, estrogénicos y estimulantes de la motilidad espermática, con el objetivo de incrementar los resultados de fertilidad y prolificidad de las inseminaciones artificiales realizadas en granjas porcinas.

El objetivo de este trabajo fue comprobar el efecto de dicho aditivo seminal en los parámetros reproductivos de las cerdas, cuando es añadido en el momento previo a la inseminación, a dosis seminales conservadas en refrigeración durante veinticuatro y cuarenta y ocho horas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en siete explotaciones porcinas ubicadas en Castilla y León. La duración del ensayo fue de 365 días y se inseminaron 2715 cerdas que son híbridos originados del cruce de las razas Large-White (LW) x Landrace (LD). Destetadas entre 21 y 28 días postparto, presentaron celo entre el cuarto y octavo día postdestete. En estas explotaciones se practica sistemáticamente la inseminación artificial con la fracción seminal rica en espermatozoides diluida (1:10, 1:15) en un diluyente comercial (MR-A®) de forma que se asegure en cada dosis de 100 ml un mínimo de 3×10^9 espermatozoides progresivamente móviles. Tras diagnosticar el celo mediante el reflejo de inmovilización, provocado por un operario de la explotación mediante presión en la zona dorsal de la hembra con presencia del verraco, las cerdas son inseminadas dos o tres veces con un intervalo de 24 horas entre ellas y en jaulas individuales. El diagnóstico de gestación se basa en la ausencia de celo a los 21 días. En la nave de gestación permanecieron hasta 5 días antes del parto.

En el estudio se consideraron dos grupos experimentales: grupo 1 cerdas control inseminadas sin añadir el aditivo al semen y grupo 2 cerdas en que previamente a la inseminación artificial se añadía 1 ml del aditivo (Lechon-Plus®) al semen. La composición del aditivo por ml se basa en tres tipos de constituyentes: 5 UI de oxitocina, 10 µg 17 betaestradiol y 2 mM de cafeína. El procedimiento a seguir fue el siguiente: a cada dosis seminal se añade 1ml de Lechon-Plus® en el momento previo a la inseminación de la cerda en celo. No era necesario calentar el aditivo al incorporarlo al semen y una vez añadido a la dosis seminal se

realiza un ligero volteo para realizar un correcto homogeneizado. Inmediatamente después se procede a la inseminación de la cerda.

Todos los análisis se efectuaron empleando el software STATISTICA® y las características de las pruebas se ajustaron a las condiciones establecidas en Carrasco (1995) y el manual del usuario del software. La fertilidad se analizó utilizando la prueba del χ^2 , aplicándose la corrección de Yates, o la que resulta de utilizar la prueba exacta de Fisher, si existían los supuestos que las exigían (Carrasco, 1995). La prolificidad se evaluó mediante análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas 1 y 2, se presentan los efectos del aditivo sobre la fertilidad para dosis seminales almacenadas durante veinticuatro y cuarenta y ocho horas.

Tabla 1. Efecto del aditivo sobre la fertilidad para dosis seminales conservadas 24 horas.

Tratamiento	n	Fertilidad (%)
Con aditivo seminal	764	89,2 ^a
Grupo control	1239	83,1 ^b

a-b, valores con distinto superíndice son estadísticamente significativos ($p < 0,05$)

Tabla 2. Efecto del aditivo sobre la fertilidad para dosis seminales conservadas 48 horas.

Tratamiento	n	Fertilidad (%)
Con aditivo seminal	175	85,1
Grupo control	155	88,4

En nuestro experimento, en el grupo de cerdas inseminadas con dosis seminales conservadas en refrigeración durante veinticuatro horas y a las que añadimos el aditivo seminal en el momento inmediatamente anterior a la inseminación, se observa un incremento de la fertilidad de 6,1 puntos con respecto a las cerdas del grupo control. Por lo tanto hay una mejora de la fertilidad, siendo las diferencias observadas estadísticamente significativas.

Por otro lado, en el grupo de cerdas inseminadas con dosis seminales conservadas en refrigeración durante cuarenta y ocho horas y a las que añadimos el aditivo seminal en el momento inmediatamente anterior a la inseminación, no se observa un incremento de la fertilidad con respecto a las cerdas del grupo control, lo que consideramos debido a que estas presentan un porcentaje de fertilidad muy alto.

Igualmente, Köning (1979), encontró que cuando se añade a las dosis seminales de 4 a 5 UI de oxitocina, inmediatamente antes de su utilización, se incrementa la fertilidad en la cerda entre 5 a 7 puntos, aunque no señala el tiempo de conservación de dichas dosis.

En las Tablas 3 y 4, se presentan los efectos del aditivo sobre el número de lechones nacidos vivos para dosis seminales almacenadas durante veinticuatro y cuarenta y ocho horas.

Tabla 3. Lechones nacidos vivos con semen conservado 24 horas.

Tratamiento	Nacidos vivos semen 24 h
Con aditivo seminal	10,7
Grupo control	10,5

Tabla 4. Lechones nacidos vivos con semen conservado 48 horas.

Tratamiento	Nacidos vivos semen 48 h
Con aditivo seminal	11,3 ^a
Grupo control	10,2 ^b

a-b, valores con distinto superíndice son estadísticamente significativos (p<0,05)

El número de lechones nacidos vivos, cuando usamos el aditivo en el semen conservado veinticuatro horas aumenta en 0,2 lechones por camada aunque las diferencias observadas no son estadísticamente significativas, sin embargo, cuando utilizamos el aditivo en las dosis seminales conservadas en refrigeración durante cuarenta y ocho horas aumenta el número de nacidos vivos en 1,1 lechones por camada, siendo las diferencias observadas estadísticamente significativas.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Domínguez *et al.* (1989), los que constatan que la adición de 4 UI de oxitocina a las dosis seminales, inmediatamente antes de su aplicación por inseminación artificial en la cerda produce un incremento muy significativo en los nacidos vivos. También con los resultados obtenidos por Gil *et al.* (1998), Jiménez y Calderón (2000) y Mirt (2000), que observan que con la adición de Dinolytic[®] (análogo a la prostaglandina F_{2α}) aumentaban los porcentajes de fecundación y el número total de lechones vivos, generalmente del orden del 1 al 20% y de 0,1 a 1 lechón por camada, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carrasco, J. L. 1995. El método estadístico en la investigación médica. Madrid. 6ª Edición. Ciencia 3, p: 590.
- Cheng, H., Althouse, G. C., Hsu, W. H. 2001. Prostaglandin F_{2α} added to extended boar semen at processing elicits in vitro myometrial contractility after 72 h storage. *Theriogenology* 55: 1901-1906.
- Domínguez, J. C., Anel, L., Carbajo, M., Peña, F. 1989. Efecto de la adición de oxitocina al semen sobre la fertilidad y prolificidad en la inseminación artificial porcina. *Anales Fac. Vet. León*. Vol XXXV pp: 113-116.
- Dzuik, P. J. 1987. Embryonic loss in the pig: an enigma. In: *Manipulating pig production*. Australasian pig science association (ed.): 28-39. Werribee, Victoria.
- Gil, J., Chico, J., Gil, O., López, A. 1998. Increasing swine prolificacy by adding Dinolytic to semen doses. In: *Proceedings of the 15th IPVS Congress*, Birmingham, UK, p. 216.
- Jiménez, E., Calderón, E. 2000. Use of dinoprost in boar semen in the first service: two field cases. In: *Proceedings of the 16th IPVS Congress*, Melbourne, Australia, p. 408.
- Köning, I. 1979. Inseminación de la cerda. Ed. Acribia. Zaragoza.
- Mirt, D. 2000. DinolyticTM sterile solution in the seminal doses in gilts. In: *Proceedings of the 16th IPVS Congress*, Melbourne, Australia, p. 418.
- Sánchez, R., García, P., Tortades, J. M., Pérez, C., Sáiz Cidoncha, F., Martín Rillo, S. 1992. Effect of methylergometrin maleate addition to seminal doses on fertility and prolificity in swine. In: *12th Congress IPVS*. The Hague (Netherlands) p.440.
- Weitze, K. F., Lotz, J. H., Everwand, A., Willmen, T., Waberski, D. 1990. Interaction between inseminate, uterine and ovarian function in the sow. II Investigations into the influencing of ovulation by the use of sperm-free media. *Reprod. Dom. Anim.*, 25: 197-204.
- Willenburg, K. L., Miller, G.M., Rodríguez-Zas, S. L., Knox, R. V. 2003. Effect of boar exposure at time of insemination on factors influencing fertility in gilts. *J. Anim. Sci.* 81: 9-15.

ESTUDIO DE LA CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA *IN VITRO* EN ESPERMATOZOIDES EYACULADOS Y EPIDIDIMARIOS

Matás, C., García-Vázquez, F., Sansegundo, M., Gadea, J., Coy, P., Ruiz, S.
Dpto. Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. cmatas@um.es
<http://www.um.es/grupo-fisiovet>

INTRODUCCIÓN

La capacitación espermática se puede definir como el conjunto de modificaciones a nivel molecular que ocurren en el espermatozoide, después de la maduración en el epidídimo, y que le confieren la capacidad de fertilizar al ovocito. *In vitro*, este proceso puede ser mimetizado eliminando el plasma seminal por distintos sistemas de lavado e incubando a los espermatozoides en medios de composición comparable a la del fluido oviductal (revisado por Visconti *et al.*, 2002). Entre los tratamientos espermáticos utilizados habitualmente en los laboratorios se encuentran los lavados que se realizan con medios con albúmina o a través de centrifugaciones en un gradiente de Percoll®. En la mayoría de los casos, el medio de capacitación contiene sustratos energéticos (piruvato, lactato, glucosa), un aceptor de colesterol (normalmente albúmina), bicarbonato y calcio, además de determinados electrolitos. El mecanismo por el cual estos componentes promueven la capacitación sigue siendo motivo de estudio. Parte del proceso ha podido ser identificado, ya que se ha determinado una correlación entre la capacitación y la salida de colesterol de la membrana plasmática, lo que conlleva un incremento en la fluidez de la misma, con una modificación en la concentración de iones y una hiperpolarización de la membrana. Todo ello es necesario para que se produzca una hiperactivación espermática y finalmente la reacción acrosómica.

El objetivo de este trabajo ha sido mostrar de forma conjunta las experiencias desarrolladas por nuestro grupo para caracterizar el proceso de capacitación, inducido mediante distintos tratamientos, en espermatozoides porcinos eyaculados y en espermatozoides obtenidos de epidídimo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los espermatozoides eyaculados se obtuvieron a partir de verracos de fertilidad probada. Los espermatozoides de epidídimo procedían de animales sacrificados en matadero. Solamente se utilizaron los espermatozoides de la cola del epidídimo. Se realizaron tres tratamientos de capacitación (Matás *et al.*, 2003): A) espermatozoides lavados a través de un gradiente de Percoll® (45 y 90% ó 45 y 75% v/v para espermatozoides eyaculados y epididimarios, respectivamente), B) espermatozoides lavados en medio PBS con un 0'1% de BSA, y C) espermatozoides en los que mediante una centrifugación suave se eliminó el plasma seminal o la secreción procedente de epidídimo, denominados como "no lavados" (NL). Posteriormente, todas las muestras espermáticas se resuspendieron en medio de fecundación TALP.

Para la determinación de la capacitación espermática utilizamos la medición de los siguientes parámetros (Gadea *et al.*, 2005):

- Desorden lipídico de la membrana plasmática evaluado mediante citometría de flujo de espermatozoides teñidos con merocianina 540 y Yo-Pro.
- Incremento de los niveles de calcio evaluado mediante fluorimetría utilizando fluorocromo Fura-2 (Harper *et al.*, 2003; Sansegundo *et al.*, 2005).

- Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) de los espermatozoides marcados con el fluorocromo H₂DCFDA y evaluados mediante citometría nivel de flujo.
- Parámetros de motilidad espermática determinados por CASA.
- Reacción acrosómica, evaluada mediante citometría de flujo utilizando lectina PNA e yoduro de propidio.
- Penetración *in vitro* homóloga con ovocitos madurados *in vitro* cocultivados durante 2 y 4 horas

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los **lípidos de membrana** se vieron modificados tanto por el origen de los espermatozoides como por el tratamiento al que éstos fueron sometidos. Los espermatozoides epididimarios presentaron un mayor porcentaje de células viables y con bajo desorden lipídico que los espermatozoides eyaculados. Dentro de los epididimarios el tratamiento con BSA supuso una reducción de la viabilidad espermática en comparación con el Percoll® y el no lavado (% de muertos: BSA 43'45a vs. Percoll® 35'75b y NL 31'85c, p<0'05). Pero fue el NL el tratamiento que mantuvo una mayor proporción de membranas con lípidos estables. (NL 22'76a, BSA 15'85b y Percoll® 19'71b, p< 0'05).

El nivel de **calcio intracelular** se incrementó en todos los grupos durante el tiempo de incubación en el que realizamos el estudio aunque sin seguir la misma cinética. En términos generales, la concentración media en los espermatozoides eyaculados fue superior a la de espermatozoides de epidídimo (472'27 vs. 101'84 nM), y los espermatozoides lavados con BSA-PBS o bien con Percoll® fueron los que presentaron los niveles más altos (660'42 vs. 604'12 nM).

La producción de **ROS** (medida en unidades de fluorescencia) fue incrementando a lo largo del tiempo de incubación y estuvo afectada por el tratamiento espermático y por el origen de los espermatozoides. Los espermatozoides eyaculados produjeron la mayor cantidad de ROS (14'20 vs. 9'80), y dentro de éstos, los lavados con Percoll®.

En lo referente a la **motilidad**, encontramos que los valores para todos los parámetros analizados fueron mayores para los espermatozoides epididimarios. En cuanto al efecto que tuvo sobre ellos el tratamiento espermático, independientemente del origen de los espermatozoides, observamos que solo existieron diferencias para velocidad curvilínea (VCL), linealidad (VCL) y rectitud (STR) entre los espermatozoides lavados con Percoll® y los otros dos grupos.

La **reacción acrosómica** se vio influenciada tanto por el tratamiento como por el origen de los espermatozoides, de manera que el mayor porcentaje de espermatozoides reaccionados se obtuvo en el grupo de eyaculados, y dentro de éstos, en los que habían sido lavados con BSA.

Los resultados de **FIV** mostraron que a las 2 horas de cocultivo la penetración espermática fue significativamente superior cuando los espermatozoides eyaculados habían sido lavados a través de un gradiente de Percoll®, siendo similar para el resto de grupos. Cuando se dejaron transcurrir 4 horas de cocultivo, los resultados de penetración de espermatozoides de epidídimo fueron muy superiores a los eyaculados, salvo para el caso de aquellos que se lavaron a través de un gradiente de Percoll®. Además, el mayor número de espermatozoides por ovocito se obtuvo con espermatozoides eyaculados lavados a través de gradiente de Percoll®.

Dependiendo del tratamiento al que se somete a los espermatozoides, sea cual sea el origen de éstos o con qué parámetro determinamos el grado de capacitación espermática, el resultado que obtenemos es diferente. Por tanto, bajo nuestra opinión, aunque todos los parámetros utilizados evalúan la capacitación, cada uno de ellos de forma aislada no discrimina cual es el tratamiento con el que mejor capacitamos la muestra. Hay autores que opinan que los espermatozoides procedentes de epidídimo se capacitan más fácilmente que los eyaculados (Yanagimachi, 1994), lo que corrobora los resultados de penetración cuando el cocultivo se realiza durante 4 horas para espermatozoides de epidídimo, pero no para espermatozoides eyaculados lavados con Percoll®. Sin embargo, según esta teoría, los espermatozoides de epidídimo deberían ser capaces de penetrar más rápidamente que los eyaculados y esto no ocurre cuando el cocultivo es de 2 horas, donde la máxima penetración se obtiene con espermatozoides eyaculados lavados con Percoll®. Además, los niveles de calcio intracitoplasmáticos, o la producción de ROS, fueron mas elevados en espermatozoides eyaculados que en espermatozoides de epidídimo. Por ello, pensamos que los espermatozoides eyaculados son más fáciles de capacitar que los de epidídimo bajo determinados sistemas de capacitación. Una explicación a este hecho puede encontrarse en los recientes resultados de Lusignan *et al.* (2006), que demuestran que ciertas proteínas del plasma seminal del verraco (similares a las BPS en toro) estimulan la capacitación de los espermatozoides al inducir la salida de colesterol y de fosfolípidos de la membrana espermática. De esta forma, cabe entender que el plasma seminal parece poseer algunas características que facilitan la capacitación de los espermatozoides cuando éstos son lavados posteriormente a través de un gradiente de Percoll®.

Financiado con proyecto AGL2003-03144.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gadea J, Gumbao D, Matás C and Romar R. 2005. *J. Androl.* 26: 749-756.
- Harper C, Kirkman-Brown J, Barratt C, Publicover SJ. 2003. *Biochem. J.* 372:407-417.
- Lusignan MF, Bergeron A, Crête MH, Lazure C, Manjunath P. 2006. *Biol. Reprod.* (Paper in Press).
- Matás C, Coy P, Romar R, Marco M, Gadea J and Ruiz S. 2003. *Reproduction.* 125 133-141.
- Sansegundo M, Matás C, Marín NT, Gonzalez A, Ruiz S. 2005. *ITEA* 26:334-336
- Visconti PE, Westbrook VA, Chertihin O, Demarco I, Sleight S and Diezmann AB. 2002. *J. Reprod. Immunol.* 53:133-150.
- Yanagimachi R. 1994. In: Knobil, E., Neill, JD (Eds.). vol. 1. Raven Press, New York, pp.189-317.

UTILIZACIÓN DE LA LOPU EN CAPRINO: VALORES FOLICULARES Y OVOCITARIOS

Romaguera, R., Chacaltana, A., Fonseca, C., Anguita, B., Catalá, M., Casanovas, A., Mogas, T., Izquierdo D., Paramio, MT.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona.
08193 Bellaterra. Barcelona. teresa.paramio@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los ovocitos de cabras prepúberes tienen unos porcentajes de maduración nuclear y fecundación total similares a los ovocitos de cabras adultas (Martino *et al.*, 1994) aunque presentan mayores tasas de fecundaciones anormales (Mogas *et al.*, 1997). Diferentes autores indican que los ovocitos de hembras prepúberes muestran un menor desarrollo embrionario que los procedentes de hembras adultas (revisado por Armstrong, 2001).

Tanto en animales adultos como en prepúberes, al aumentar el diámetro folicular incrementa el diámetro ovocitario (Arlotto *et al.*, 1996) y su capacidad de desarrollo embrionario (Kauffold *et al.*, 2005). Este hecho ya ha sido descrito en cabras adultas por Crozet *et al.*, (1995), los cuales observaron que los ovocitos procedentes de folículos de 2 a 3 mm, de 3 a 5 mm y de más de 5 mm, producían un 6, 12 y 26% de blastocistos, respectivamente. Además, en otro estudio publicado por el mismo equipo (Crozet *et al.*, 2000), los ovocitos contenidos en los folículos > 2 mm tenían un diámetro de 136 µm. En cabras prepúberes, Martino *et al.* (1994) observaron que la mayor parte de la población folicular es de diámetro menor a 3 mm y que en el interior de los folículos de 2 a 3 mm los ovocitos tenían un diámetro de 135 µm.

Nuestra hipótesis de trabajo es por lo tanto, comprobar si el menor desarrollo del ovocito de prepúber es por su origen en folículos pequeños o por características intrínsecas en las hembras prepúberes. Para conseguir este objetivo es necesario obtener folículos grandes en hembras prepúberes (estimulación folicular con FSH) y recoger sus ovocitos mediante LOPU. En este primer estudio, se tiene como objetivo poner a punto la LOPU en cabras adultas para disponer de una metodología eficaz que nos permita obtener ovocitos de folículos de diámetro conocido y de hembras de edad y estado fisiológico conocido.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 cabras adultas de la raza Murciano Granadina de entre 13 y 24 meses de edad (31,8±1,9 kg PV) pertenecientes a la Granja Experimental de la UAB.

Se realizaron cuatro sesiones de LOPU separadas entre ellas 14 días durante los meses de noviembre a enero. En cada sesión los animales fueron sincronizados mediante la aplicación de una esponja vaginal de acetato de fluorogestrona (30 mg; Chrono-gest®. Intervet, España) durante 10 días combinada con un tratamiento luteolítico de 125 IU de cloprostenol (Estrumate® Schering-Plough S.A, Reino Unido) intramuscular 48 horas antes de la retirada de la esponja y coincidiendo con la LOPU. Para la estimulación ovárica se les administró 125 IU FSHp (PLUSET®, Calier S.A, España) dividida en cuatro dosis decrecientes (39, 39, 23.5, 23.5 im FSH-LH) separadas entre ellas 12 horas e iniciándose 48 horas antes de cada sesión (Baldassarre *et al.*, 1996).

Al inicio de la sesión se les administraba una anestesia general constituida por una premedicación de midazolam (0,01 mg/Kg. Dormicum® 5mg/ml; Roche, España) con buprenorfina (0,2 mg/Kg. Buprex® 0,3mg, Schering-Plough S.A., Reino Unido) intramuscular, una inducción con propofol (4,3 mg/Kg Lipuro1%, B.Braun, Alemania) intravenosa y el mantenimiento con isoflurano (isoflo®, Lab. Dr. Esteve S.A., España) vía inhalatoria.

La técnica LOPU ("laparoscopic ovum pick up") se realizó según el protocolo descrito por Roche (2005) en caprino. Brevemente, se les colocaba en posición supina y con una inclinación de 45°. Se les realizaba tres incisiones, cranealmente a la glándula mamaria, el primero próximo a la línea alba, el segundo al lado izquierdo del animal y el último al lado derecho separados entre ellos 10 cm. En cada una de las incisiones se introdujo, el endoscopio, la pinza de sujeción atraumática y el catéter guía para la entrada de la aguja de aspiración.

El ovario se visualizaba a través de un monitor de televisión conectado al endoscopio mediante la cámara de vídeo. A continuación se sujetaba el ligamento ovárico con la pinza atraumática y se aspiraban los folículos en función de su diámetro, clasificándose como

pequeños (FP) los de 2-3 mm, medianos (FM) los de 3 a 5 mm y grandes (FG) los de más de 5 mm (Crozet *et al.*, 1995).

La fabricación de la aguja de aspiración y el sistema colector es semejanza del protocolo citado. La bomba de aspiración utilizada realizaba un vacío de entre 8 y 10 ml por minuto.

El medio de recolección constaba de PBS (Gibco) suplementado con 1 mg/ml Glucosa (Sigma), 0,036 mg/ml Piruvato sódico (Sigma), 0,5 mg/ml de BSA Fracción V (Sigma), 0,05 mg/ml Gentamicina (Sigma) y 0,1mg/ml heparina (Sigma). Al finalizar la sesión se irrigaba el ovario con suero fisiológico heparinizado (Heparina sódica 5%, ROVI S.A, España), se suturaban los orificios con sutura 2/0 no reabsorbible (Dafilon®, B.Braun, España) y se aplicaba un cicatrizante tópico (Aluspray®, vetoquinol, Francia).

En función del diámetro folicular, los complejos cúmulus ovocitos (COCs) recuperados del medio de colecta se visualizaban a través del estereomicroscopio y se clasificaban según la morfología de su cúmulus en una de las cinco categorías, en función de los criterios de Marquant-Leguienne (1999). Posteriormente, los ovocitos se desnudaban de las células del cúmulus con PBSm y se les medía su diámetro a 96 aumentos excluyendo la zona pelúcida.

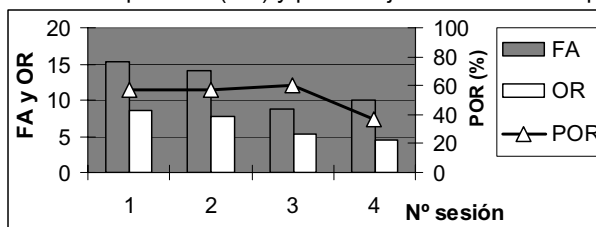
Los porcentajes de ovocitos recuperados (POR) y la categoría de COCs fueron analizados mediante un test de Fisher (Graph-Pad Instat 3.01 del Windows 95) y se utilizó el análisis de la varianza para valorar el diámetro ovocitario (ANOVA) y el efecto de la sesión sobre el rendimiento de la LOPU (Proc MIXED de SAS para medidas repetidas).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aspiraron 248 folículos (12,13±3,78 folículos por animal) y se recuperaron 138 ovocitos (6,94±2,85 ovocitos por animal) obteniendo un POR del 57%±18,09. La eficiencia de la recuperación en la bibliografía va desde el 90% (Pierson *et al.*, 2005) hasta el 33 % (Alberio *et al.*, 2002).

En la figura 1 se representa los resultados del efecto del número de sesión sobre el rendimiento de la LOPU por hembra. No se encontraron diferencias significativas en el número medio de folículos aspirados ($p < 0,18$), ovocitos recuperados ($p < 0,22$) y porcentaje de de ovocitos recuperados (POR) ($p < 0,64$) aunque se detecta una disminución de todos los parámetros con el transcurso de las sesiones.

Figura 1 - Efecto de la sesión de LOPU por hembra sobre el número medio de folículos aspirados (FA), ovocitos recuperados (OR) y porcentaje de ovocitos recuperados (POR).



El diámetro folicular no afectó al POR (tabla 1) a diferencia de lo observado por Roche (2005), quien obtuvo un POR significativamente inferior en los folículos más pequeños.

Según la clasificación morfológica realizada, el porcentaje de ovocitos clasificados como aptos para la producción *in vitro* de embriones (grados I y II) fue del 62,32 % (86/138). Además, a medida que incrementa el diámetro folicular se recupera un mayor número de COCs de mejor calidad morfológica (categoría I), tal y como ya había sido descrito por Roche (2005), y un mayor número de COCs con cúmulus expandidos.

Al igual que lo observado por Crozet *et al.* (2000), los resultados de la tabla 2 indican que, cuando los folículos alcanzan un diámetro de 2 mm, el diámetro del ovocito no varía con el aumento del diámetro del folículo. En ovocitos de cabras prepúberes, Martino *et al.* (1994) ya indicó que en los folículos < 2 mm los ovocitos medían 128 µm, en los de 2 a 3 mm 135 µm y que en los > de 3 mm el diámetro ovocitario ya no aumentaba significativamente (136 µm). Así, observamos que los ovocitos de cabras adultas y

prepúberes alcanzan su máximo tamaño alrededor de los 135 µm, independientemente del diámetro del folículo.

Tabla 1 - Efecto del diámetro de folículo sobre el porcentaje de ovocitos recuperados y las características morfológicas del COCs

DIÁMETRO FOLICULAR		2-3 mm	3-5 mm	> 5mm	TOTAL
POR (%)		50.91 ^a	58.46 ^a	56.25 ^a	55.65 ^a
Categoría morfológica COCs* (%)	I	2 ^{bB} (7,14)	5 ^{bB} (13,16)	18 ^{aAB} (25)	25 ^B (18,12)
	II	15 ^{bA} (53,57)	19 ^{abA} (50)	27 ^{aA} (37,5)	61 ^A (44,2)
	III	6 ^{aB} (21,43)	9 ^{aB} (23,68)	9 ^{aB} (12,5)	24 ^B (17,39)
	IV	2 ^{aB} (7,14)	3 ^{aB} (7,89)	1 ^{aC} (1,39)	6 ^C (4,35)
	V	3 ^{bB} (10,71)	2 ^{bB} (5,26)	17 ^{aAB} (23,61)	22 ^B (15,94)

* I: complejo cúmulos/corona completos y citoplasma homogéneo; II más de dos capas de células de cúmulos; III: una capa de células o cúmulus incompleto; IV: No cúmulus y/o ovocito degenerado; V: cúmulus expandido. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre filas y las letras mayúsculas diferencias entre columnas (P<0.05)

Tabla 2 - Relación entre el diámetro folicular y ovocitario en cabras

DIÁMETRO FOLICULAR	Nº	DIÁMETRO OVOCITARIO (MEDIA ± SEM)
2-3 mm	22	135.91±1.58 ^a µm
3-5mm	23	133.03±1.36 ^a µm
> 5mm	66	135.68±0.76 ^a µm

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberio, R., Olivera J., Roche, A., Alabart, J., Folch, J. 2002. Performance of a modified ovum pick-up system using three different FSH stimulation protocols in ewes. *Small Ruminant Research*, 46, 81-87.
- Arlotto, T., Schwartz J.L., First N.L., Leibfried-Rutledge M.L. 1996. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology*, 45: 943-956.
- Armstrong, D.T. 2001. Effects of maternal age on oocyte developmental competence. *Theriogenology*, 55: 1303-1322.
- Baldassarre, H., Fumus, C.C., de Matos, DG., Pessi, H. 1996. In vitro production of sheep embryos using laparoscopic folliculocentesis: alternative gonadotrophin treatments for stimulation of oocyte donors. *Theriogenology*, 45: 707-717.
- Crozet, N., Ahmed-Ali, M., Dubos, MP. 1995. Developmental competence of goat oocytes from follicles of different size categories following maturation, fertilization and culture in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, 103: 293-298.
- Crozet, N., Dahirel, M., Gall, L. 2000. Meiotic competence of in vitro grown goat oocytes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 118: 367-373.
- Kauffold, J., Amer, AH., Bergfeld, U., Weber, W., Sobiraj, AI. 2005. The in vitro developmental competence of oocytes from Juvenile calves is related to follicular diameter. *Journal of Reproduction and Development*, 51, 325-332.
- Marquant-Le Guienne. 1999. Atlas of the bovine oocyte. *AETE Newsletter*, 10, 6-8.
- Martino, A., Mogas, T., Palomo, MJ., Paramio MT. 1994. Meiotic competence of prepubertal goat oocytes. *Theriogenology*, 41: 969-980.
- Martino, A., Mogas, T., Palomo, M., Paramio MT. 1995. In vitro maturation and fertilization of prepubertal goat oocytes. *Theriogenology*, 43, 473-485.
- Mogas, T., Palomo, M., Izquierdo, D., Paramio MT. 1997. Developmental capacity of in vitro matured and fertilized prepubertal goat oocytes. *Theriogenology*, 47, 1189-1203.
- Pierson, J., Wang, B., Neveu, N., Sneek, L., Côté, F., Karatzas, CN., Baldassarre, H. 2005. Effects of repetition, interval between treatments and season on the results from laparoscopic ovum pick-up in goats. *Reproduction Fertility and Development*, 16: 795-799.
- Roche, A. 2005. Estudio sobre la obtención de oocitos mediante laparoscopia en ovejas y cabras adultas. Tesis Doctoral.

EFFECTO DE LA MELATONINA EN LOS PROCESOS DE IVM E IVF EN LA ESPECIE OVINA

Casao, A.^{a,b}, Yáñez, J.^a, Forcada, F.^a, Abecia, J.A.^a, Cebrián-Pérez, J.A.^b, Muiño-Blanco, T.^b

^a Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. adriana@unizar.es

^b Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, F. de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

Apenas hay estudios, en ovino u otras especies, sobre la utilización de melatonina en la producción in vitro de embriones. En un reciente estudio de nuestro grupo demostramos que un implante de melatonina mejora la viabilidad de los embriones obtenidos in vivo en ovejas de edad avanzada (Forcada *et al.*, 2006), por lo que el objetivo de este experimento es determinar el efecto de esta hormona sobre la viabilidad embrionaria en un proceso de FIV.

MATERIAL Y METODOS

Los ovarios se recogieron del matadero de ovejas adultas en estación de anoestro, y se transportaron al laboratorio en PBS con 100 UI/ml penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina, a una temperatura entre 30 y 35°C. Ya en el laboratorio, los ovarios se limpiaron de tejidos y vasos sanguíneos y se lavaron 3 veces con PBS a 35°C.

Los ovocitos se liberaron mediante una combinación de los métodos de punción y slicing en una placa Petri cubiertos parcialmente con medio de manejo (Hepes-TCM199, 0,1% PVA, 0,04% NaHCO₃, 25 UI/ml de heparina, 100 UI/ml penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina).

Se seleccionaron para madurar los ovocitos con citoplasma homogéneo y varias capas de células de la granulosa, y se lavaron dos veces más en medio de manejo y otra última vez en medio de maduración (TCM-199, 10% (vol/vol) de suero de oveja en celo, 0,1 UI/ml de FSH y LH (HMG-Lepori, Angelini Farma-Lepori, Barcelona), cisteamina 100 µM, piruvato sódico 0,3 mM, 100 UI/ml de penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina).

Tras el último lavado los ovocitos se dividieron en dos grupos, de forma que los ovocitos del primer grupo maduraron con melatonina (10⁻⁵ M), y el segundo actuó de grupo control. Los ovocitos de cada grupo se transfirieron a un pocillo de una placa 4-well (20 – 40 ovocitos por pocillo) con 500 µl de medio de maduración. Los pocillos se cubrieron con aceite mineral y se incubaron durante 24 horas a 39°C, con una atmósfera humidificada con el 5% de CO₂.

La melatonina se utilizó a una concentración de 10⁻⁵ M, que es una dosis intermedia entre las dosis que han producido resultados en otras especies (Ishizuka *et al.*, 2000; Dimitriadis *et al.*, 2005; Parka *et al.*, 2006), diluida en DMSO (0,1% v/v) y PBS.

A las 22 – 24 horas del inicio de la maduración, los ovocitos se denudaron pipeteándolos varias veces suavemente y se lavaron dos veces en medio de fecundación (SOF (Tervit y Whittingham, 1972) sin glucosa, al que se le añade un 2% (vol/vol) de suero de oveja en celo, 10 µg/ml de heparina y 1 µg/ml de hipotaurina), y se colocaron en un pocillo con 350 µl de dicho medio. Al igual que en la fase de maduración, se mantuvo el grupo de melatonina con una concentración de 10⁻⁵ M, y un grupo control sin melatonina.

Por otro lado, el mismo día de la fecundación se extrajo semen fresco de moruecos de raza Rasa Aragonesa. En el momento de la fecundación, el semen se sometió a un procedimiento de swim-up durante 15 minutos a 39°C y 5% de CO₂ y se añadió al pocillo con los ovocitos, a una concentración final aproximada de 10⁶ espermatozoides/ml. Los pocillos se cubrieron con aceite mineral y los gametos se incubaron durante 24 horas a 39°C y 5% de CO₂.

El cultivo de los embriones se realizó en un cocultivo con células de la granulosa. Las placas de cocultivo se prepararon el día de la fecundación de los ovocitos, sembrando las células de la granulosa que quedaron en el medio tras denudar los ovocitos, en pocillos de

placas 4-well que contienen 500 µl de TCM-199 con un 10% suero fetal bovino, y se mantuvieron 24 horas en la incubadora a 39°C y 5% de CO₂.

A las 24 horas los pocillos del cocultivo se lavaron tres veces con SOF de cultivo (SOF, de nuevo sin glucosa, al que se le añadió BME aminoácidos esenciales, MEM aminoácidos no esenciales, 10% (vol/vol) de suero fetal bovino para sustentar el cocultivo, L-glutamina 1 mM y 100 UI/ml penicilina G y 100 µg/ml de estreptomina).

A las 24 y 36 horas tras la fertilización, los embriones divididos se extrajeron de los pocillos, se pipetearon suavemente para eliminar restos de espermatozoides y células, se lavaron dos veces en SOF de cultivo, y se transfirieron a las placas con el cocultivo. Los pocillos se cubrieron con aceite mineral y se mantuvieron en la incubadora a 39°C y 5% de CO₂ durante 8 días (contando como día 0 el momento de la fertilización in vitro). El medio de cultivo se cambió cada 2 – 3 días para aportar nuevos nutrientes y eliminar desechos.

Los embriones, que habían madurado en dos medios diferentes, melatonina y control, se dividieron a su vez en dos grupos, de manera que al final se establecen cuatro grupos para su cultivo: MM (ovocitos madurados con melatonina y embriones cultivados con melatonina; n=88), MC (ovocitos madurados con melatonina y embriones cultivados sin melatonina; n=79), CM (ovocitos madurados sin melatonina y embriones cultivados con melatonina; n=89) y CC (ovocitos madurados sin melatonina y embriones cultivados sin melatonina; n=90).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados del cultivo de embriones se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Resultados del cultivo de embriones a día 8.

	Degenerados	< 16 células	Mórulas	Blastocistos
MM	5,68 %	23,86 %	55,68 % ^a	14,77 % ^a
MC	7,59 %	29,11 %	46,84 % ^{a,b}	16,46 % ^{a,b}
CM	4,49 %	28,09 %	42,70 % ^b	24,72 % ^b
CC	8,89 %	26,67 %	37,78 % ^b	26,67 % ^b

Superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas.

En la tabla 1 se puede apreciar claramente que los embriones que proceden de ovocitos madurados sin melatonina alcanzan una fase más avanzada (blastocisto) que los que proceden de ovocitos madurados con ella, en los que predominan las mórulas. Al realizar un análisis estadístico por chi cuadrado, se obtienen diferencias muy significativas ($p < 0,01$) si comparamos MM con CC y diferencias significativas ($p < 0,05$) si comparamos MM frente a CM y CC. No hay diferencias significativas si lo comparamos con MC.

Una de las razones que puede explicar los resultados de este experimento sería que en otras especies el efecto de la melatonina parece ser dosis-dependiente (Adriaens *et al.*, 2006), con variaciones en función de la especie, de manera que no hay estudios que nos indiquen la dosis óptima para la especie ovina. Tampoco hay estudios sobre la presencia de melatonina en el líquido folicular ovino ni su concentración, que nos podrían haber orientado en la dosis a utilizar, ni sobre la presencia de melatonina en el fluido oviductal en ninguna especie.

Estudios en nuestro grupo con embriones ovinos han utilizado una concentración de 1µg/ml ($0,43 \times 10^{-5}$ M), pero se trataba de blastocistos obtenidos in vivo, congelados, descongelados y cultivados durante 24 – 48 horas (Abecia *et al.*, 2002). En este caso, la concentración utilizada claramente favorecía el desarrollo de los embriones hasta la fase eclosión parcial o total, contrastando con los resultados del presente ensayo.

No hay ninguna referencia en la literatura que indique que la presencia de melatonina sea perjudicial para el desarrollo embrionario. Algunos autores indican que la presencia de melatonina en el medio de cultivo no afecta, ni positiva ni negativamente al embrión (Chan y Ng, 1994; McElhinny *et al.*, 1996), pero en nuestro caso es su presencia en el medio de maduración o fecundación la que afecta al posterior desarrollo de los embriones.

En otros estudios se ha demostrado que la concentración de melatonina afecta a la maduración del ovocito, ejerciendo su efecto tanto en el desarrollo del folículo ovulatorio como en la maduración de los ovocitos; sin embargo, una dosis de 10^{-3} M tiene efectos negativos sobre muchos parámetros, y una dosis de 2×10^{-3} M es claramente tóxica (Adriaens *et al.*, 2006).

La dosis utilizada en el presente experimento (10^{-5} M) es considerada en el experimento anterior como sin efecto sobre los parámetros evaluados. Sin embargo, los ovocitos obtenidos en el citado ensayo de Adriaens *et al.* (2006) no se fecundaron, por lo que no hay ninguna información sobre el desarrollo embrionario posterior. En general, no hay ningún estudio sobre el efecto de la melatonina en todas las fases del proceso de FIV, sino que los estudios se centran, bien en su efecto sobre la maduración (Dimitriadis *et al.*, 2005; Parka *et al.*, 2006), o bien su efecto en el cultivo (Chan y Ng, 1994; McElhinny *et al.*, 1996; Ishizuka *et al.*, 2000; Danilova *et al.*, 2004), por lo que el efecto de la maduración del ovocito con melatonina sobre su posterior desarrollo embrionario no se ha estudiado en ninguna especie.

En cuanto al efecto de la melatonina en el cultivo embrionario, del análisis de la literatura se desprende que la concentración de melatonina en el medio parece ser clave, ya que estudios en ratones muestran grandes variaciones en el porcentaje de blastocistos obtenidos utilizando concentraciones que oscilaban entre 10^{-4} M y 10^{-8} M. Los resultados del presente experimento parecen mostrar que la melatonina afecta de forma negativa al cultivo *in vitro* de embriones ovinos cuando se utiliza durante la maduración del ovocito, por lo que son necesarios estudios que evalúen la dosis óptima de la hormona pineal a utilizar en cada una de las fases del proceso.

Trabajo financiado por los proyectos AGL 2004-00432 (CICYT) y A26 (DGA)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abecia, J. A., Forcada, F. and Zuñiga, O. (2002). "The effect of melatonin on the secretion of progesterone in sheep and on the development of ovine embryos *in vitro*." *Vet. Res. Commun.* **26**: 151 - 158.
- Adriaens, I., Jacquet, P., Cortvrindt, R., Janssen, K. and Smits, J. (2006). "Melatonin has dose-dependent effects on folliculogenesis, oocyte maturation capacity and steroidogenesis." *Toxicology In press*.
- Chan, W. Y. and Ng, T. B. (1994). "Development of pre-implantation mouse embryos under the influence of pineal indoles." *J. Neural Transm. Gen. Sect.* **96**(1): 19-29.
- Danilova, N., Krupnik, V. E., Sugden, D. and Zhdanova, I. V. (2004). "Melatonin stimulates cell proliferation in zebrafish embryo and accelerates its development." *FASEB J.*: 03-0544fje.
- Dimitriadis, I., Papanikolaou, T., Vainas, E., Amiridis, G. S., Valasi, I., Samartzi, F. and Rekkas, C. A. (2005). "Effects of melatonin on *in vitro* maturation of bovine oocytes." *Reprod. Domest. Anim.* **40**(4).
- Forcada, F., Abecia, J. A., Cebrian-Perez, J. A., Muino-Blanco, T., Valares, J. A., Palacin, I. and Casao, A. (2006). "The effect of melatonin implants during the seasonal anestrus on embryo production after superovulation in aged high-prolificacy Rasa Aragonesa ewes." *Theriogenology* **65**(2): 356-365.
- Ishizuka, B., Kuribayashi, Y., Murai, K., Amemiya, A. and Itoh, M. T. (2000). "The effect of melatonin on *in vitro* fertilization and embryo development in mice." *J. Pineal Res.* **28**: 48-51.
- McElhinny, A. S., Davis, F. C. and Warner, C. M. (1996). "The effect of melatonin on cleavage rate of C57BL/6 and CBA/Ca preimplantation embryos cultured *in vitro*." *J. Pineal. Res.* **21**(1): 44-8.
- Parka, E., Leea, D., Choa, J., Hana, J., Chaa, K. and Yoona, T. (2006). "Addition of melatonin in *in vitro* maturation (IVM) medium increases maturation and fertilization of immature human oocytes." *Fertility and Sterility* **86**(3, Supplement 1): S168.
- Tervit, H. R. and Whittingham, D. G. (1972). "Successful culture *in vitro* of sheep and cattle ova." *J. Reprod. Fert.* **30**: 493 - 497.

EFICIENCIA DE LA RECUPERACIÓN *IN VIVO* DE ÓVULOS DE CONEJA POR LAPAROSCOPIA

Cortell, C.¹, Vicente, J.S.², Mocé, E.¹, Marco-Jiménez, F.², Viudes De Castro, M.P.¹

¹Centro Tecnología Animal (CITA). IVIA. Polígono de la Esperanza, 100, 12400. Segorbe. (Castellón).

²Departamento de Ciencia Animal. U.P.V. Camino de Vera, s.n. 46071. Valencia.

INTRODUCCIÓN

La obtención de óvulos es una etapa imprescindible tanto para los programas de conservación *ex situ* de recursos genéticos (Holt y Pickard *et al.*, 1999; FAO), como para su aplicación en diferentes técnicas reproductivas como ICSI, FIV o transferencia nuclear. En conejo, es habitual que las recuperaciones de ovocitos tengan lugar *post-mortem*. Para la obtención de ovocitos inmaduros se suelen utilizar las técnicas de cortes foliculares o "slicing" (Lorenzo *et al.*, 1997) o de punción y aspiración de los mismos (Viudes de Castro *et al.*, 1999; Mocé *et al.* 2002). En cambio, si se desea recuperar óvulos maduros, la técnica utilizada con más frecuencia es la recuperación *post-mortem* mediante lavado oviductal realizado a las 14 horas tras la inducción de la ovulación (Viudes de Castro *et al.* 2005; Zhao *et al.*, 2006). La recuperación *in vivo* llevada a cabo por laparotomía (Liu *et al.* 2004) es bastante inusual.

La obtención de embriones se ha llevado a cabo en numerosas ocasiones *in vivo* por laparotomías (Forcada y López, 2000) y laparoscopias repetidas (Besenfelder *et al.*, 1998; Lavara *et al.*, 2005; Mehaisen *et al.*, 2006) para optimizar el número de embriones recuperados por hembra. Debido a la ventaja que supone recuperar *in vivo*, especialmente cuando se utilizan poblaciones con escaso número de individuos o animales de gran valor, en este trabajo planteamos la recuperación de óvulos maduros por laparoscopia repetida en una misma hembra, haciendo uso de una técnica similar a la utilizada en la recuperación *in vivo* de embriones por laparoscopia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron hembras nulíparas de cuatro meses y medio de edad, pertenecientes a la línea A, seleccionada por tamaño de camada al destete (Estany *et al.*, 1989). Éstas fueron sometidas a cuatro tratamientos de superovulación con rFSH (Gonal-F® 75, Serono, Italy), cada 30 días aproximadamente. Cada tratamiento consistía en tres inyecciones intramusculares de FSH disueltas en PVP, una cada 24 horas. Paralelamente se utilizó un grupo control al que se le inyectaba la misma solución sin hormona. El cuarto día a todas las hembras se les indujo la ovulación mediante la inyección intramuscular de 2µg de acetato de buserelina. Las laparoscopias fueron realizadas entre las 16 y las 18 horas posteriores a la inducción de la ovulación.

El procedimiento de laparoscopia utilizado fue similar al que se utiliza para recuperar embriones (Besenfelder *et al.*, 1998). Las conejas fueron anestesiadas con una combinación de xilacina y ketamina. Tras distender el abdomen se introdujeron dos trócares caudalmente al esternón, estos fueron los puntos correspondientes al fórceps atraumático y al endoscopio. Tras hacer el recuento de la tasa de ovulación, se practicaron dos punciones en la región inguinal por las que se accedió a los oviductos, introduciendo el catéter con el medio de perfusión a través del infundíbulo de éstos y perfundiendo cada uno de ellos con 5 mL de medio DPBS con antibiótico. Posteriormente se perfundió cada uno de los cuernos uterinos con 50 ml de medio de lavado, que se recogió del fondo de vagina con un catéter de Foley conectado a una

bomba de aspiración. A continuación, se procedió a la localización y recuento de los óvulos.

Cada hembra fue sometida a cuatro procesos de recuperación con al menos un mes de intervalo entre cada uno de ellos. En cada sesión se registraron los datos de tasa de ovulación (TO) y número de óvulos recuperados (OR), calculando la eficiencia de la recuperación de óvulos en función de la tasa de ovulación (OR/TO expresado en porcentaje). Se analizaron los efectos del tratamiento de superovulación y del número de sesiones de recuperación (de 1 a 4), así como su interacción sobre la tasa de ovulación y la eficiencia de recuperación. El análisis de la eficiencia de recuperación se realizó tras una transformación angular de los datos (en la tabla 1 se muestran las medias sin transformar). Los análisis se llevaron a cabo mediante un GLM (General Linear Model) con el paquete estadístico Statgraphics®Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp., Rockville, MO, USA). Las medias fueron comparadas con el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el análisis de datos, se observó que el tratamiento de superovulación afectó significativamente a la TO resultando menor en el caso de las hembras control ($17,2 \pm 1,2$ vs. $9,3 \pm 2,8$; Tabla 1; $P < 0,05$), como cabía esperar. Sin embargo, el tratamiento de superovulación no tuvo efecto significativo sobre la eficiencia de recuperación. No obstante, si se reanalizan los datos, atendiendo a la respuesta de las hembras al tratamiento de superovulación, y se considera que sólo han superovulado aquellas que tenían un tasa de superovulación igual a la media del grupo control más tres veces su error estándar ($9,09 \pm 0,61$) y se realiza un análisis de varianza de la eficacia de recuperación, una vez transformados angularmente los datos, se observan diferencias significativas a favor de las hembras que superovularon realmente tras el tratamiento (38 conejas, $71,3 \pm 5,27\%$ frente al $48,3 \pm 5,74\%$ de las 32 conejas no superovuladas; Tabla 1; $P < 0,05$, datos sin transformar).

El primer hecho relevante es que sólo 38 de las 59 conejas han superovulado, lo cual corrobora los resultados obtenidos por Mehaisen *et al.* (2006), que observaron que la respuesta al tratamiento superovulatorio disminuye ya en el segundo tratamiento en conejas. El segundo hecho relevante es que las hembras realmente superovuladas podrían favorecer la perfusión *in vivo* de los óvulos al modificar el tránsito oviductal. Esto deberá ser demostrado en trabajos posteriores.

Tabla1. Resultados de tasa de ovulación y eficacia de recuperación de ovocitos

TRATAMIENTO	n	TO lsmean±es	OR/TO lsmean±es
Control	11	$9,3 \pm 2,82^b$	$44,7 \pm 9,3$
FSH	59	$17,2 \pm 1,15^a$	$59,4 \pm 4,2$
Nº recuperaciones			
1	11	$14,1 \pm 2,75$	$33,0 \pm 0,2^b$
2	16	$10,9 \pm 2,35$	$38,2 \pm 8,69^{ab}$
3	15	$15,1 \pm 4,21$	$69,5 \pm 15,6^a$
4	28	$12,8 \pm 2,49$	$60,7 \pm 9,23^a$
Total	70	$13,2 \pm 1,52$	$50,3 \pm 5,63$

n: Número de hembras. TO: Tasa de ovulación. TO/OR: Eficiencia de recuperación. Las letras a y b en la misma columna implican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Respecto al efecto del número de sesiones de recuperación a los que se somete a una hembra sobre la eficiencia de la recuperación, sí se observaron diferencias significativas, siendo mayores las eficiencias de recuperación en la tercera y cuarta intervención que en la primera (69,5 y 60,7 % frente al 33%, respectivamente; Tabla 1; $P < 0.05$). La interacción tratamiento-número de recuperaciones no resultó significativa. Estas diferencias podrían deberse por un lado a las modificaciones en el tránsito y/o captura de óvulos por parte del oviducto como consecuencia de que las conejas han completado ya dos ciclos sexuales, y por otro, a la adquisición de experiencia por parte del grupo de trabajo, ya que esta técnica entraña una dificultad añadida debido al momento de su aplicación. La perfusión 16-18 horas tras la ovulación implica generar una elevada presión intraluminal para vencer la falta de relajación de las paredes del útero, lo que en ocasiones puede generar pequeños reflujos. Además debemos considerar que los óvulos se encuentran demasiado cercanos a la entrada infundibular, de manera que, al introducir el catéter (al menos 1 cm para su sujeción) podría ser inevitable que, en alguna ocasión, el extremo de éste quede más profundo que algunos de los óvulos todavía rodeados por el cúmulo expandido y que, por tanto, éstos no sean perfundidos. La eficiencia del 50% obtenida por Besenfelder a las 14-15 horas tras la ovulación (comunicación personal) respaldaría estos resultados.

Finalmente, podríamos decir que, a pesar de las bajas eficiencias de las dos primeras sesiones (33,0 % y 38,2 % respectivamente, tabla 1), es posible alcanzar una eficiencia de recuperación de óvulos en MII superior al 60%. Así, esta técnica de recuperación *in vivo* de óvulos maduros de forma repetida sobre una hembra podría proporcionar una herramienta muy útil para estudios sobre la calidad ovocitaria, o para su utilización en otros campos de la biotecnología en el conejo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BESENFELDER U., STROUHAL C., BREM G. 1998. J. Vet. Med. 45, 577-579.
- ESTANY J., BASELGA M., BLASCO A., CAMACHO. J 1989. Livest. Prod. Sci. 21, 67-75.
- FAO. www.fao.org/docrep/004/y1100m/y1100m09.htm
- FORCADA F., LÓPEZ M. 2000. Anim. Reprod. Sci. 64, 121-126.
- HOLT WV., PICKARD AR. 1999. Reviews of reproduction. 4, 143-150.
- LIU JL., KUSAKABE H., CHANG CC., SUZUKI H., SCHMIDT DW. JULIAN M., PFEFFER R., BORMANN CL., TIAN CL., YANAGIMACHI R., YANG X. 2004. Biol. Reprod. 70, 1776-1781.
- LAVARA R., VIUDES DE CASTRO MP., MEHAISEN GMK., VICENTE JS., 2005. XI Jornadas Producción Animal.
- LORENZO PL., ILLERA JC., SILVÁN G., MUNRO CJ., ILLERA MJ., ILLERA M. 1997. J. Reprod. Immunol. 35, 11-29.
- MEHAISEN GMK., VIUDES DE CASTRO MP., VICENTE JS., LAVARA R. 2006. Theriogenology. 65, 1279-1291.
- MOCÉ, E., VICENTE, J.S., LAVARA, R., 2002. World Rabbit Sci., 10: 53-62.
- VIUDES DE CASTRO MP., MOCÉ E., VICENTE JS., LAVARA R. 1999. II Congreso Ibérico de Reproducción Animal. 228-230.
- VIUDES DE CASTRO MP., MOCÉ E., VICENTE JS., MARCO JIMÉNEZ., LAVARA R. 2005. Reprod. Domest. Anim. 40, 136-140.
- ZHAO ZJ., OUYANG YC., NAN CL., LEI ZL., SONG XF., SUN QY., CHEN DY. 2006. J. Reprod. Dev. 52, 449-459.

PATRONES NUCLEARES Y CITOPASMÁTICOS DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE OOCITOS DE CONEJA

Arias-Álvarez, M.¹, López-Béjar, M.², Rebollar, P.G.³, García-García, R.M.¹, Lorenzo, P.L.¹

¹ Dpto. Fisiología (Fisiología Animal). Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

² Dpto. Anatomía y Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona.

³ Dpto. Producción animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid.

pilar.grebollar@upm.es

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la fisiología de la reproducción es fundamental para mejorar los parámetros reproductivos en conejas sometidas a ritmos intensivos de producción, y para aumentar los rendimientos económicos de una granja cunícola. La lactación y el déficit en la condición corporal son los principales factores limitantes del éxito reproductivo. Por esto, se utilizan estrategias reproductivas y nutricionales, que permiten por un lado, inducir y sincronizar el celo en las conejas lactantes de forma efectiva, y por otro, paliar el déficit energético, sobre todo en las conejas primíparas. El ovario es el órgano diana sobre el que en última instancia actúan estas estrategias y cuya respuesta a los cambios endocrinos ocurridos, puede englobarse un gran número de procesos relacionados con el grado de maduración de los folículos y de sus oocitos antes de la ovulación y la fecundación.

Durante la oogénesis, los oocitos permanecen quiescentes en el estadio de diplotene de la profase I; esta fase se caracteriza por la presencia de un núcleo prominente llamado vesícula germinal (VG). A lo largo del desarrollo folicular, el oocito crece pero permanece detenido en el mismo estadio, adquiriendo mientras tanto la capacidad de reiniciar y completar su maduración meiótica, necesaria para la preparación de su fecundación (Edwards, 1965; Sirard, 2001). La reanudación de la meiosis se identifica por la rotura de la membrana nuclear de la vesícula germinal y la progresión hasta el estadio de metafase de la segunda división meiótica (metafase II), pasando por la extrusión del primer corpúsculo polar y la expansión del cúmulo de células granulosas que rodean al gameto. Sin embargo, la maduración de los oocitos se refiere a dos sucesos biológicos diferenciados: a) maduración nuclear, referida a las modificaciones en la cromatina inicial, desde el estadio de VG hasta el de metafase II; b) maduración citoplásmica que, entre otros procesos, culmina con la migración de los gránulos corticales (GC) hacia la periferia del oocito para impedir la polispermia (Dulcibella *et al.*, 1993; Hoodbhoy *et al.*, 1994). El fracaso de cualquiera de estos aspectos durante la maduración origina la imposibilidad de una correcta fecundación y del adecuado desarrollo embrionario posterior (Sirard, 2001).

Este estudio pretende determinar los patrones de maduración nuclear y citoplásmica en oocitos de coneja cultivados *in vitro*, mediante la observación de los diferentes estadios nucleares meióticos y la migración de los gránulos corticales. El establecimiento de estos patrones es necesario como criterio morfológico previo, para evaluar cómo afectan las estrategias reproductivas y nutricionales sobre la formación de un oocito competente apto para ser ovulado y fecundado con normalidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención y transporte de los ovarios. Los oocitos se obtuvieron de ovarios de conejas prepúberes y adultas sacrificadas en el matadero (Picañol S.L.). Se transportaron al laboratorio en un solución de PBS y antibiótico (50 µg/ml de gentamicina sulfato) a una temperatura de 37°C.

Obtención, clasificación y selección de los oocitos. Se aspiró el contenido de los folículos antrales visibles en la superficie del ovario, superiores a 1mm de diámetro, (Jelinkova *et al.*, 1994) con una aguja de 25 G conectada a una jeringa de 1 ml. Los complejos cúmulo oocito (COC) fueron seleccionados para cultivo en base a criterios

morfológicos de homogeneidad en el cúmulo y en el citoplasma descritos por Lorenzo *et al.* (1994,1996).

Maduración *in vitro*. Los oocitos se maduraron *in vitro* (IVM) según el protocolo de Izquierdo *et al.* (2001), con modificaciones adaptadas a la especie. El medio de maduración estaba compuesto por TCM-199, piruvato sódico (0,27mg/ml), glutamina 0,14 mg/ml, antibiótico (50 µg/ml de gentamicina sulfato), 10% de DBS (Suero de Donante Bovino), cisteamina (100µM), FSH (10µg/ml), LH (10µg/ml) y 17-β estradiol (1µg/ml). El cultivo se realizó en microgotas de 100 µl, en un incubador a 38,5°C, con un 5% de CO₂ y un 100% de humedad relativa, durante 18-20h.

Inmunofluorescencia. Los oocitos antes y después del cultivo *in vitro* fueron denudados de su cúmulo celular con hialuronidasa (2 mM) y se trataron con pronasa al 0,5% para digerir la zona pelúcida. Posteriormente se fijaron en una solución paraformaldehído al 4% durante 30 minutos a temperatura ambiente. Los oocitos se procesaron según el protocolo de Velilla *et al.* (2004), modificado por el Dr. López-Béjar, para realizar este estudio en oocitos de coneja con inmunofluorescencia. Se lavaron en primer lugar con una solución permeabilizante (PBS con 1% de Tritón X-100) durante 15 minutos, seguidos de dos lavados más, en PBS con 0,2% de Tritón X-100. Se pasaron a una solución bloqueante (PBS con 7,5% de BSA) durante 45 minutos y seguidamente se incubaron en una solución de 100 µg/ml de isotiocianato de fluoresceína conjugado con la aglutinina de la *lens culinaris* (FITC-LCA) en PBS durante una hora. La configuración nuclear se analizó mediante la tinción de los oocitos con DAPI.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente estudio sobre la maduración *in vitro* de oocitos de coneja nos ha servido para definir la técnica de inmunofluorescencia en esta especie e ir estableciendo los patrones predominantes nucleares y también los citoplasmáticos de los GC.

Patrones nucleares:

- VG. Se observa la presencia de núcleo rodeado por una membrana nuclear y cromatina laxa. Los oocitos no han reiniciado la meiosis. Dentro de esta configuración hemos encontrado 2 estadios morfológicos:
 - VG I; el núcleo esta caracterizado por la presencia de cromatina laxa en el que se distinguen las fibras de cromatina.
 - VG II: la cromatina esta condensada previa a la rotura de la VG.
- VGBD (Rotura de Vesícula Germinal). Desaparece la membrana nuclear. Se ha reanudado la meiosis. Con la técnica de inmunofluorescencia utilizada no se aprecia la membrana nuclear por lo tanto es difícil de establecer el momento de VGBD.
- M I (Metafase I). Cromosomas bivalentes condensados al máximo en el ecuador del huso acromático.
- M II (Metafase II). Cromosomas condensados en metafase y extrusión del primer corpúsculo polar. En los oocitos teñidos con la técnica descrita no se puede ver el corpúsculo polar debido a la ausencia de zona pelúcida, digerida previamente para poder permitir el paso del fluorocromo que tiñe los GC (FITC- LCA).

En contraste a lo que ocurre en otros mamíferos, en la coneja, otros autores han descrito la presencia de cromatina condensada en el estadio de VG (Motlik *et al.*, 1989; Jelinkova *et al.*, 1994; Ju *et al.*, 2002) al igual que los resultados obtenidos en este estudio preliminar. Sin embargo, en el presente trabajo, sólo hemos podido diferenciar dos estadios en cuanto al grado de compactación de los cromosomas en VG, a diferencia de los cuatro que describe Jelinkova *et al.* (1994) teñidos con orceína, en función del tamaño del oocito y del folículo; o los tres clasificados por Ju *et al.* (2002), teñidos con Hoechst 33342.

Patrones de distribución de los gránulos corticales:

- Patrón difuso. GC distribuidos por la totalidad el citoplasma excepto en el espacio pericromosómico donde se encuentra la VG. La mayor parte de los oocitos (86,7%, sobre un total en los que ambas configuraciones, nuclear y citoplasmática, están claramente definidas) corresponden al estadio de VG.
- Patrón cortical. GC en la región cortical separados de la membrana plasmática. El mayor número de estos oocitos aparecen asociados a configuraciones nucleares de metafase (66,6%).

En este estudio no se ha podido determinar la existencia o ausencia de una distribución periférica completa de los GC. En otras especies, este patrón periférico se correspondería con una maduración citoplasmática correcta del oocito (Carneiro *et al.*, 2002; Velilla *et al.*, 2004). El que no hayamos podido definir este patrón puede ser debido a diferentes causas que dejan abiertas varias vías de actuación al respecto: 1) Que los oocitos de coneja madurados *in vitro* no consigan una migración total de los gránulos corticales. Por ello, sería de ayuda valorar y comparar estos patrones con oocitos madurados *in vivo*. 2) Que la visualización de los GC con un microscopio de fluorescencia convencional no permita la categorización de este patrón con suficiente exactitud; por lo tanto, sería adecuado un estudio de microscopía confocal, en el que obtendríamos cortes del oocito y una mayor fiabilidad para definir los diferentes tipos de patrones.

El resto de los patrones de distribución de los GC descritos para la coneja son similares a los observados en otras especies (Óseo y Shioga, 1997; cerdo: Sun *et al.*, 2001; caballo: Carneiro *et al.*, 2002; cabra: Velilla *et al.*, 2004) en cuanto a que la migración de los GC está correlacionada en un alto porcentaje con el proceso de maduración nuclear. Si bien, también se observa que en algunos oocitos ambos procesos se desarrollan independientemente. Esto nos indica que para evaluar si existe una correcta maduración del oocito es necesario tener en cuenta ambos criterios; la migración periférica de los gránulos corticales acompañada de la presencia de metafase II.

Agradecimientos: A la Dra. Paramio (UAB) y al Dr. Revuelta (UCM) por su inestimable ayuda. Al matadero Picañol S.L. por su colaboración. M. Arias-Álvarez, es becaria predoctoral de la Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid y del Fondo Social Europeo (FSE). R.M. García-García, agradece la financiación al MEC mediante el programa Juan de la Cierva. El presente estudio ha sido financiado por un proyecto MEC (AGL 2005-0196) y el Programa de Ayudas a Grupos de Investigación (920249) de la UCM-CM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carneiro G.F., Liu I.K.M., Hyde D., Anderson G.B., Lorenzo P.L., Ball B.A. 2002. *Mol. Reprod. Dev.* 63: 451-458.
- Dulcibella T., Kurasawa S., Duffy P., Kopf G.S., Schultz R.M. 1993. *Biol Reprod*; 48 (6): 1251-1257.
- Edwards R.G. 1965. *Nature*. 208: 349-351.
- Izquierdo D., Villamediana P., Paramio M.T. 2001. *Theriogenology*. 56(5): 847-861.
- Hoodbhoy T., Talbot P. 1994. *Mol. Reprod. Dev.* 39: 439- 448.
- Hoosoe M., Shioga Y. 1997. *Zygote*. 5: 371- 376.
- Jelinkova L., Kubelka M., Motlik J., Guerrier P., 1994. *Mol. Reprod. Dev.* 37: 210- 215.
- Ju J.C., Chen T.H., Tseng J.K., Tsay C., Yeh S.P., Chou P.C., Chen C.H., Liu T.C. 2002. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 15(12): 1695-1701.
- Lorenzo P.L., Rebollar P.G., Illera M.J., Illera J.C., Illera M., Alvaríño J.M.R. 1994. *Arch. Zootecnia*. 45:25-35.
- Lorenzo P.L., Rebollar P.G., Illera M.J., Lorenzo P.L., Alvaríño J.M.R. 1996. *J. Reprod. Fert.* 107: 109-117.
- Motlik J., Fulka Jr J., Procházka R., Rimkevicova Z., Kubelka M., Fulka J. 1989. *Reprod. Nutr. Dev.* 29: 601-609.
- Sirard M.A. 2001. *Theriogenology*. 55: 1241- 1254.
- Sun Q.Y., Lai L., Bonk A., Prather R.S., Schatten H. 2001. *Mol. Reprod. Dev.* 59:192- 198.
- Velilla E., Izquierdo D., Rodríguez-González E., López-Béjar M., Vidal F., Paramio M.T. 2004. *Mol. Reprod. Dev.* 68: 507-514.

EFFECTO DE LA APOPTOSIS EN EL COMPLEJO CUMULUS-OVOCITO DE CABRAS PREPÚBERES SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO

Anguita, B., Jiménez-Macedo, A.R., Romaguera, R., Paramio, M.T., Mogas, T., Izquierdo, D.

Dpto. Ciència Animal i dels aliments. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra (Barcelona). E-mail: Dolors.Izquierdo@uab.es

INTRODUCCIÓN

La apoptosis es el mecanismo que permite regular procesos biológicos mediante la eliminación de células defectuosas o que ya no son necesarias (Steller, 1995). En el ovario, la apoptosis es la responsable de la atresia folicular por la cual, muchos de los folículos presentes en el ovario durante el nacimiento no llegarán a ser ovulados. En hembras prepúberes, al igual que en las adultas, también se produce reclutamiento de folículos para su crecimiento, pero todos degeneran por atresia debido a la falta de la señal hormonal adecuada (Tilly y Tilly, 1995). El uso de ovarios procedentes de matadero supone obtener una población ovocitaria muy heterogénea. Además, cuando los ovocitos se recuperan de los ovarios mediante la técnica de *slicing* no se puede utilizar la morfología y el tamaño del folículo como criterio de selección. En este caso, el diámetro del ovocito y el aspecto del complejo cumulus-ovocito (COC) son los criterios más utilizados, aunque no es posible asegurar a simple vista la calidad de los mismos.

En nuestro laboratorio, Anguita *et al.* (2007) evaluaron el estadio nuclear de los ovocitos procedentes de cabras prepúberes inmediatamente después de su liberación de los folículos, y se observó que a medida que aumentaba el diámetro de los ovocitos se incrementaba el porcentaje de ovocitos que ya habían reanudado la meiosis. Los ovocitos que se encuentran dentro de los folículos están en parada meiótica y únicamente se produce la reanudación de la meiosis en el ovocito que contiene el folículo dominante después del pico de LH, o en folículos atrésicos debido a la expansión prematura de las células del cumulus. Así, la hipótesis de trabajo a desarrollar en este estudio se basa en que los ovarios de cabras prepúberes se caracterizan por presentar una población de ovocitos muy heterogénea en el grado de crecimiento y de atresia, hecho que sería responsable del bajo porcentaje de ovocitos que alcanzarían el estado de blastocisto en comparación con el desarrollo de los ovocitos de las cabras adultas, y que el grado de apoptosis se relaciona con el tamaño del ovocito y la morfología de su COC. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar en ovocitos de cabras prepúberes la incidencia de apoptosis en ovocitos y células del cumulus dependiendo, no sólo del diámetro ovocitario, sino también en la morfología del complejo cumulus-ovocito, y de qué modo influye en el posterior desarrollo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron ovarios de cabras prepúberes (45-60 días) en un matadero comercial. Los complejos cumulus-ovocitos (COCs) fueron liberados de sus folículos mediante la técnica de *slicing*. Los COC recuperados fueron clasificados en 2 grupos dependiendo de su morfología: sanos (S): ovocitos con el citoplasma homogéneo y cumulus compacto, y ovocitos con indicios de atresia (IA): ovocitos con el citoplasma heterogéneo y/o las células del cumulus empezando a expandirse. Posteriormente, se midió el diámetro del ovocito que contenía el COC y éstos se dividieron en 3 grupos adicionales: grupo A: 110-125 µm; grupo B: 125-135 µm; y grupo C: >135 µm. De cada uno de los 6 grupos experimentales se cogieron muestras de COCs al azar para evaluar la incidencia de apoptosis, tanto en los COCs como en los ovocitos denudados, mediante la técnica de TUNEL. Los COCs que no fueron utilizados para la detección de la apoptosis fueron MIV durante 27 horas en medio TCM199 suplementado con hormonas y cisteamina y FIV con espermatozoides procedentes de eyaculados frescos seleccionados mediante la técnica de swim-up y capacitados con heparina e ionomicina. Tras 24 horas de coincubación de los gametos en medio mDM, los presuntos cigotos se pusieron a cultivar durante 7 días en gotas de medio SOF (Takahashi y First, 1992) a 38,5 °C en una atmósfera formada por un 5% CO₂, un 5% O₂ y un 90% N₂ y saturada de humedad para valorar su desarrollo embrionario. A las 48 hpi, se añadió 0,1 µl de suero fetal bovino (FBS) por cada ovocito presente en la gota. Al final del proceso, los

embriones fueron teñidos con Hoechst 33342 (Sigma, B-2261) para evaluar el número total de blastómeros mediante un microscopio de fluorescencia.

Evaluación de la apoptosis: Las muestras de ovocitos y COCs fueron fijadas en paraformaldehído al 4% a 4°C hasta que se realizaba la tinción de TUNEL (Tdt-mediated dUTP nick-end labelling). El protocolo de TUNEL (in situ cell death detection Kit, Fluorescein, Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA) fue realizado según las instrucciones del fabricante. Las muestras del control positivo fueron incubadas con 0.1 U/ μ L DNAsa durante 1 hora a 37 °C. El control negativo fue incubado en las mismas condiciones que el resto de grupos experimentales pero sin la presencia del enzima *Terminal deoxynucleotidyl transferase*. Posteriormente, los ovocitos y embriones fueron teñidos con yoduro de propidio (6.25 μ g/ml; P-4170, Sigma) para diferenciar las células vivas de las muertas. Las muestras se evaluaron mediante un microscopio de fluorescencia. Las células apoptóticas mostraron núcleos fragmentados de color verde-amarillo, mientras que las no apoptóticas se observaron con el núcleo intacto de color rojo. Tras la técnica de TUNEL, los ovocitos denudados se clasificaron en: (1) apoptóticos, ovocitos con el núcleo fragmentado de color verde; y (2) no apoptóticos, ovocitos con el núcleo intacto de color rojo. Al mismo tiempo se valoró el estadio de maduración nuclear de los ovocitos. Respecto a los COCs, dependiendo de la distribución de las células TUNEL positivas, éstos fueron clasificados como: (1) COC Viable, sin células del cumulus apoptóticas y (2) COC con apoptosis.

Los datos fueron analizados utilizando el programa estadístico Graph-Pad Instat 3.01 para Windows (Graph-Pad software, San Diego, California, USA). Para comparar la proporción de células TUNEL positivas entre los diferentes grupos de ovocitos y de COCs y el desarrollo embrionario se utilizó un Fisher's exact test. Los datos sobre el número medio de células de los blastocistos fueron analizados mediante un análisis de la varianza con un post-test de Tukey. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio para ver en qué estadio nuclear se encontraban los ovocitos de cabras prepúberes inmediatamente después de su liberación de los folículos, observamos que a medida que aumentaba su diámetro se incrementaba el porcentaje de ovocitos que ya habían reanudado la meiosis (Anguita *et al.*, 2007). En consecuencia, nuestros resultados parecían indicar que la mayoría de ovocitos recuperados de cabras prepúberes eran atrésicos, y que la atresia aumentaba con el diámetro ovocitario. No obstante, en este trabajo y tal como se muestra en la Tabla 1, cuando el COC presentaba una morfología sana, los ovocitos de mayor diámetro son los que proporcionaron un nivel de apoptosis menor en el momento de la recogida, no observándose diferencias estadísticas entre los 3 tamaños de ovocitos estudiados procedentes de COCs con indicios de atresia.

Al evaluar la apoptosis en las células del cumulus de los COC (Tabla 1), los ovocitos de menor diámetro, independientemente de su morfología, fueron los que mostraron un mayor porcentaje de COCs con células del cumulus apoptóticas. Respecto al desarrollo embrionario, diversos estudios han descrito que los COCs que muestran signos tempranos de atresia dan lugar a un mayor porcentaje de blastocistos (Blondin y Sirard, 1995; Boni *et al.*, 2002), debido a que estos COCs sufren un proceso similar a la maduración dentro del folículo (Assey *et al.*, 1994). No obstante, en nuestras condiciones, los COCs que no presentaron signos de atresia y cuyo ovocito era de tamaño superior a 135 μ m fueron los que proporcionaron un mayor porcentaje de blastocistos (Tabla 2). La importancia del diámetro sobre el desarrollo embrionario ya había sido descrita previamente tanto en cabras prepúberes (Anguita *et al.*, 2007) como adultas (Crozet *et al.*, 1995).

Respecto a la morfología del COC, parece que ésta es determinante cuando el ovocito ya ha finalizado su crecimiento ($>135 \mu$ m) pero no antes, ya que no hemos observado diferencias estadísticamente significativas en cuanto a producción de embriones, de mórulas y de blastocistos entre los COC sanos y los que presentaban indicios de atresia cuando los ovocitos tenían el mismo rango de diámetro y éste era inferior a 135 μ m (Tabla 2). Al estudiar la calidad de los blastocistos obtenidos, evaluada según el número de células de los blastocistos, en cabras prepúberes ésta no parece verse afectada por la morfología del COC y el diámetro ovocitario. En conclusión, el diámetro del ovocito y la morfología del COC son

buenos indicadores de la competencia ovocitaria para producir embriones en cabras prepúberes. No obstante, la selección de los COCs mediante su morfología antes de la MIV incrementa el porcentaje de blastocistos sólo en los ovocitos que han completado su crecimiento. Así, para obtener el mayor porcentaje de blastocistos deben seleccionarse los COCs con un diámetro ovocitario superior a 135 μm y sin signos visibles de atresia.

Tabla 1. Nivel de apoptosis en ovocitos y Complejos cumulus-ovocito (COC) inmaduros dependiendo del diámetro del ovocito y la morfología del COC que lo contiene.

	Sanos			Indicios atresia		
	110-125 μm	125-135 μm	>135 μm	110-125 μm	125-135 μm	>135 μm
Ovocitos apoptóticos/ Ovocitos evaluados (%)	33/64 ^a (51,5)	45/104 ^a (43,3)	8/66 ^b (12,1)	7/60 ^b (11,7)	18/91 ^b (19,8)	14/55 ^b (25,4)
COCs con CCs apoptóticas/ COCs evaluados (%)	75/82 ^a (91,5)	73/111 ^b (65,7)	37/57 ^{bd} (64,9)	42/47 ^{ac} (89,4)	60/75 ^{acd} (80,0)	40/51 ^{bcd} (78,4)

CCs: células del cumulus. Valores en la misma fila con distintos superíndices (^{a, b, c, d}) difieren significativamente ($p < 0,05$).

Tabla 2. Desarrollo embrionario y calidad de los blastocistos según la morfología del COC y el diámetro ovocitario

	\emptyset (μm)	N	Total Div (%)	Mor (%)	Blast. (%)	Nº medio células blast.
Sanos	110-125 μm	222	71 ^a (32)	4 ^a (1,8)	0 ^a	
	125-135 μm	510	303 ^b (59,4)	20 ^{ab} (3,9)	27 ^b (5,3)	92,5 \pm 51,9
	>135 μm	230	165 ^c (71,7)	16 ^{bc} (7)	33 ^c (14,3)	128,9 \pm 81,4
Indicios Atresia	110-125 μm	284	95 ^a (33,4)	5 ^a (1,8)	1 ^a (0,3)	146
	125-135 μm	463	292 ^b (63,1)	13 ^a (2,8)	19 ^b (4,1)	106,7 \pm 77,1
	>135 μm	215	145 ^c (68,8)	17 ^c (7,9)	11 ^b (5,1)	107,4 \pm 67,7

N: ovocitos inseminados; Div: total de embriones; Mor: mórulas; Blast: blastocistos; Valores en la misma columna con distintos superíndices (^{a, b}) difieren significativamente ($P < 0,05$).

BIBLIOGRAFÍA

- Anguita B, Jimenez-Macedo AR, Izquierdo D, Mogas T, Paramio MT. 2007. Effect of oocyte diameter on meiotic competente, embryo development, p34 (cdc2) expresión and MPF activity in prepubertal goat oocytes. *Theriogenology* 67: 526-536.
- Assey RJ, Hyttel P, Greve T, Purwantara B. 1994. Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles. *Mol Reprod Dev* 37(3):335-344.
- Blondin P, Sirard MA. 1995. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol Reprod Dev* 41(1):54-62.
- Boni R, Cuomo A, Tosti E. 2002. Developmental potential in bovine oocytes is related to cumulus-oocyte complex grade, calcium current activity, and calcium stores. *Biol Reprod* 66(3):836-842.
- Crozet N, Ahmed-Ali M, Dubos MP. 1995. Developmental competence of goat oocytes from follicles of different size categories following maturation, fertilization and culture in vitro. *J Reprod Fertil* 103: 293-298.
- Steller H. 1995. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-1449.
- Takahashi Y, First N. 1992. In vitro development of bovine one-cell embryos: influence of glucose, lactate, pyruvate, amino acids and vitamins. *Theriogenology* 37: 963-78.
- Tilly JL, Tilly KI. 1995. Inhibitors of oxidative stress mimic the ability of follicle-stimulating hormone to suppress apoptosis in cultured rat ovarian follicles. *Endocrinology* 136(1):242-252.

EFFECTO DEL TRATAMIENTO ESPERMÁTICO CON TRITON X-100 EN LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES PORCINOS MEDIANTE INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES

García-Mengual, E.¹, Alfonso, J.², García-Roselló, E.³, Salvador, I.¹, Silvestre, M.A.¹

¹Centro de Tecnología Animal, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (CITA-IVIA), Segorbe, Castellón. egarcia@ivia.es

²Instituto de Medicina Reproductiva (IMER), Valencia.

³Dpto. Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad CEU-Cardenal Herrera. Edificio Seminario s/n 46113 Moncada-Valencia.

INTRODUCCIÓN

Con la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se evitan ciertos procesos que se dan en la fecundación *in vivo*, como la capacitación, la reacción acrosómica o la fusión de membranas. La cromatina entra en el ooplasma junto con el material perinuclear, el acrosoma y la membrana plasmática del espermatozoide. Aunque todos estos componentes se suelen desintegrar dentro del citoplasma del oocito, se ha sugerido que podrían interferir en la remodelación de la cromatina espermática, sustitución de las protaminas por histonas y desmetilación de la cromatina paterna.

En comparación con lo obtenido en otras especies, la ICSI en porcino no está del todo consolidada, y esto es en parte debido a características intrínsecas del espermatozoide de porcino, ya que tras la ICSI, en la mayoría de trabajos publicados, el núcleo espermático no es capaz de descondensar de forma espontánea para formar el pronúcleo (PN) masculino, y esto da lugar a bajas tasas de fecundación (Lee y Yang, 2004). Para mejorar la formación pronuclear tras la ICSI de oocitos de vacuno y de porcino se han ensayado diferentes tratamientos espermáticos, que generalmente tienen como objetivo inmovilizar el espermatozoide y desestabilizar la membrana espermática: a) golpear la cola del espermatozoide con la pipeta de inyección (Dozortsev *et al.*, 1995); b) congelar/descongelar el espermatozoide sin crioprotector (Tian *et al.*, 2006); c) aplicar pulsos piezoeléctricos con la pipeta de microinyección en el espermatozoide (Katayama *et al.*, 2005); d) tratamiento del espermatozoide con ditiotreitol (DTT; reduce los puentes disulfuro de las protaminas que compactan el ADN espermático) (Watanabe y Fukui, 2006); e) tratamiento del espermatozoide con Triton X-100 (TX-100) (detergente aniónico que produce daños en la membrana y el acrosoma (Kimura *et al.*, 1998).

El tratamiento del espermatozoide con TX-100 parece ser una de las alternativas más atractivas, ya que además de desestabilizar la membrana eliminaría el acrosoma que también interfiere la descondensación de la cromatina espermática tras la ICSI en porcino (Katayama *et al.*, 2002). El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del tratamiento del espermatozoide con TX-100 en la viabilidad embrionaria tras la ICSI.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ovarios de cerdas prepúberes procedentes de matadero se transportaron al laboratorio a 39°C en solución salina. Los complejos cúmulo-oocito se recuperaron mediante la punción folicular de folículos de entre 3 y 7 mm de diámetro. Una vez recuperados y catalogados los oocitos se maduraron *in vitro* en TCM199 durante 44 horas a 38°C, 5%CO₂ y 5%O₂ según el protocolo descrito por Silvestre *et al.* (2007). Las primeras 22h de maduración el medio se suplementó con hormonas (FSH y LH recombinante), y las siguientes 22h se cultivó en el mismo medio sin hormonas. Tras el proceso de maduración los oocitos se desnudaron con hialuronidasa al 0,1% y se consideraron oocitos MII maduros aquellos que habían extruido el primer corpúsculo polar.

El semen utilizado fue refrigerado y adquirido en un núcleo de inseminación artificial. Con el fin de recuperar espermatozoides vivos y móviles, fue centrifugado a 50g durante 3 min. El sobrenadante fue sometido a una segunda centrifugación de 1250g durante 4 min y el sedimento se resuspendió en TCM199 Hepes suplementado con suero (HM199) y se preservó a temperatura ambiente hasta su utilización (semen control).

Para el tratamiento del espermatozoide con TX-100, la fase superior (1-2 ml) del semen control (con mayor porcentaje de espermatozoides móviles) se separó y se añadió TX-100 al 0,1%, se agitó en el vortex 1 min y se lavó con HM199, centrifugándolo a 500g durante 5 min. El sedimento se resuspendió en HM199.

Diseño experimental: Se dividieron aleatoriamente los oocitos MII en dos grupos homogéneos: **1)** ICSI convencional y **2)** ICSI con espermatozoides tratados con TX-100. La ICSI se realizó según García-Roselló *et al.* (2006) con ligeras modificaciones. Inmediatamente antes de la microinyección, se mezclaron en una microgota de 10µl de PVP al 10% dependiendo del grupo, 5µl de la suspensión espermática control o de los espermatozoides tratados con TX-100. Para la ICSI convencional se seleccionó un espermatozoide móvil y se inmovilizó golpeando la cola con la pipeta de microinyección. En el caso de la ICSI con espermatozoides tratados con TX-100 esto no fue necesario ya que todos los espermatozoides estaban inmóviles. Se microinyectó un solo espermatozoide por oocito en una microgota (10µl) de HM199 cubierta con aceite mineral.

Posteriormente a la ICSI, el cultivo embrionario se llevó a cabo en grupos de 20 a 30 oocitos en 500µl de PZM3 suplementado con albúmina sérica bovina y cubierto con aceite mineral a 38°C, 5% de CO₂ y 5% de O₂. Las tasas de división y de formación de blastocistos se valoraron a las 48 y 168 h post-ICSI respectivamente. Con el fin de contar el número de células, aquellos embriones que se desarrollaron hasta el estadio de blastocisto fueron fijados y teñidos en etanol absoluto con Hoechst 33342 y se observaron con un microscopio equipado con fluorescencia.

Los resultados obtenidos para tasa de división y tasa de formación de blastocistos se compararon usando el test Chi-cuadrado, mientras que el número de células por blastocisto fue analizado con el test de ANOVA. Se realizaron tres réplicas para cada grupo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tratamiento del espermatozoide con TX-100 en la viabilidad embrionaria tras la ICSI. El TX-100 es un detergente aniónico capaz de disolver proteínas nucleares y dañar la membrana espermática (Szczygiel y Ward, 2002). Por un lado, el tratamiento de los espermatozoides con TX-100 facilitaría la descondensación de la cabeza del espermatozoide, ya que dejaría más expuesto el núcleo espermático (sin la presencia de membranas) a los factores citoplasmáticos y al factor promotor de la metafase (MPF), acelerando la reorganización del núcleo espermático y los orgánulos dentro del ooplasma (Lee y Yang, 2004). Por otro lado, el tratamiento de TX-100 puede interrumpir, en algún grado, la estructura nuclear (integridad del ADN) del espermatozoide (Szczygiel y Ward, 2002), el cual afectaría negativamente al desarrollo de los embriones generados mediante ICSI.

En nuestro caso, no se observaron diferencias significativas ni en la tasa de división, ni en la tasa de formación de blastocistos entre los dos grupos experimentales. Tampoco se observaron diferencias significativas en el número medio de células por blastocisto (Tabla 1).

En la bibliografía, existen trabajos que describen un incremento en el desarrollo embrionario tras un tratamiento del espermatozoide con TX-100 (Lee y Yang, 2004). Sin embargo, esta mejora significativa respecto al grupo control solo fue observada en aquellos

casos en los que se reforzaba la ICSI con una activación exógena (pulso eléctrico). Otros autores solo observaron un incremento en la tasa de fecundación normal (2PN) tras el tratamiento del espermatozoide con TX-100 en comparación con el DTT o la congelación sin crioprotector de los espermatozoides, sin embargo no vieron diferencias en el número de blastocistos, ni en el número de células medio por blastocisto. (Tian *et al.*, 2006). En este sentido, Nakai *et al.* (2006) tampoco observaron ningún incremento en el desarrollo embrionario, sin aplicar ninguna activación adicional.

Los resultados del presente trabajo están en concordancia con los trabajos citados, ya que en nuestro caso no aplicamos ningún tratamiento de activación adicional. Todo parece indicar que el estudio de los tratamientos del espermatozoide deben realizarse en combinación con el estudio de los diferentes protocolos de activación, intentando optimizar la exposición del núcleo del espermatozoide a niveles altos de MPF, los cuales están íntimamente ligados tanto al envejecimiento del oocito como al momento de activación oocitaria.

Tabla 1. Efecto de un tratamiento del espermatozoide con TX-100.

	Total oocitos MII	ICSI		
		Divididos (%)	Blastocistos (%) ^a	Nº células ± ES
Control	119	98 (82,4)	10 (10,2)	31,78 ± 7,7
TX-100	74	65 (87,8)	4 (6,15)	28,25 ± 11,6

^a en relación a los divididos

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Dozortsev D, Rybouchkin A, De Sutter P. Human Reprod 1995; 10: 2960-2964.
 Garcia-Rosello E, Coy P, Garcia Vazquez FA, Ruiz S, Matas C. Theriogenology. 2006; 66:1857-1865.
 Katayama M, Koshida M, Miyake M. Hum Reprod. 2002;17:2657-2664.
 Katayama M, Sutovsky P, Yang BS, Cantley T, Rieke A, Farwell R, Oko R, Day BN. Reproduction. 2005; 130:907-916.
 Kimura Y, Yanagimachi R, Kuretake S, Bortkiewicz H, Perry AC, Yanagimachi H. Biol Reprod. 1998; 58:1407-1415.
 Lee JW, Yang X. Mol Reprod Dev. 2004; 68:96-102.
 Nakai M, Kashiwazaki N, Takizawa A, Maedomari N, Ozawa M, Noguchi J, Kaneko H, Shino M, Kikuchi K. Reproduction. 2006; 131:603-611.
 Szczygiel MA, Ward WS. Biol Reprod. 2002; 67:1532-1537.
 Silvestre MA, Alfonso J, Garcia-Mengual E, Salvador I, Duque CC, Molina I. J Anim Sci. doi: 10.2527/jas.2006-645
 Tian JH, Wu ZH, Liu L, Cai Y, Zeng SM, Zhu SE, Liu GS, Li Y, Wu CX. Theriogenology. 2006; 66:439-448.
 Watanabe H, Fukui Y. Theriogenology. 2006; 65:528-539.

Este trabajo ha sido financiado por la Generalitat Valenciana, Conselleria d'Empresa, Universitat i Ciencia (GV05/212).

EFFECTO DEL TRATAMIENTO ESPERMÁTICO Y EL TAMAÑO DE ADN EN LA INTERACCIÓN TRANSGÉN- ESPERMATOZOIDE EN LA ESPECIE PORCINA

García-Vázquez, F., Gumbao, D., ¹Gutiérrez-Adán, A., Gadea, J.

Dept. Fisiología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

¹Dept. Reproducción Animal, INIA, Madrid. E-mail: fagarcia@um.es.

<http://www.um.es/grupo-fisiovet>

INTRODUCCIÓN

La transgénesis ha sido uno de los más recientes e importantes avances en la biotecnología animal, existiendo aplicaciones en áreas diversas tales como la investigación biológica, biomédica, genética (genes implicados en el cáncer, regulación del sistema inmunológico, control del crecimiento), agropecuaria (mejora de la producción, resistencia a enfermedades), modelos animales como donadores de órganos, etc.

Hasta el momento, la microinyección pronuclear del material genético ha sido la técnica más utilizada para la generación de animales transgénicos (Gordon y Ruddle, 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).

El objetivo de este trabajo es evaluar mediante el uso del citómetro de flujo, cual es el tratamiento espermático que nos proporciona un mayor % de unión entre el transgén y las células espermáticas, además de conocer qué tamaño de ADN exógeno es capaz de transportar el espermatozoide.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experiencia 1. Efecto del tratamiento espermático en la interacción ADN exógeno- espermatozoide

El objetivo de esta experiencia fue comparar el grado de unión que existe entre espermatozoides intactos (sin las membranas alteradas) y espermatozoides a los que intencionadamente se les han permeabilizado las membranas en mayor o menor grado, ya sea de forma física (congelación-descongelación rápida) o de manera química (Tritón X100, DMSO 0.3 % y 3%). En cada una de las experiencias se ajustó la concentración de la suspensión espermática a 10⁸ células espermáticas/ml a los que se le añade 5 µg del ADN exógeno/ml. Los tratamientos espermáticos utilizados fueron los siguientes:

1) Semen intacto: El semen fue preparado por el método descrito por Lavitrano *et al.* (2003). Tras la recogida de la fracción rica del eyaculado y la dilución del semen 1:1 en medio SFM sin BSA, fue trasladado al laboratorio a 37 °C. Una vez en el laboratorio, se diluyó de nuevo en medio SFM (37 °C) en una proporción de 1:10, y se centrifugó a 800g durante 10 min a 25 °C. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió de nuevo en SFM (con BSA) a 25 °C, de nuevo se centrifugó a 800g 10 min a 25 °C; descartamos el sobrenadante y se resuspendió en 1 ml del medio con BSA a 25 °C.

2) Permeabilización de membranas con el detergente Triton X100: La solución de tritón fue preparada de acuerdo con el protocolo descrito por Perry *et al.* (1999). Para ello, 100 µl de Triton X100 al 0.5% fue añadida a 900 µl de la suspensión espermática. Tras la incubación a temperatura ambiente durante 10 min, la muestra fue centrifugada dos veces (3 min a 10.000g). El pellet fue recuperado y resuspendido en medio SFM con BSA.

3) Ruptura de las membranas por congelación/descongelación rápida: Se introdujo una suspensión de espermatozoides intactos en un baño de nitrógeno líquido durante 20 seg, seguido de la inmediata descongelación por inmersión en un baño de agua a temperatura ambiente a 37 °C. Este proceso se repitió 3 veces. Tras el proceso se confirmó que todas las células espermáticas tenían alteraciones graves de la estructura de su membrana mediante la observación microscópica de las muestras teñidas con yoduro de propidio.

4) Tratamiento con dimetilsulfóxido (DMSO): Se siguió el protocolo descrito previamente por Shen *et al.* (2006) y Li *et al.* (2006) en las especies murina y cunícola. Los espermatozoides intactos se suplementaron con DMSO (diluido en medio SFM) hasta alcanzar una concentración final de 0.3 y 3%, según experiencias. A esta suspensión se le añadió el transgén, siendo esta mezcla conservada a 4 °C durante 10-15 min.

Experiencia 2. Efecto del tamaño del transgén sobre la unión con el espermatozoide

Se usaron dos tamaños diferentes del transgén 5Kpb (EGFP) y 11Kpb (EGFP + 2 secuencias MAR), marcados con fluoresceína con el objetivo de conocer qué tamaño de ADN era capaz de transportar los espermatozoides. Del mismo modo que en la experiencia anterior se midió la unión a diferentes tiempos estableciendo la curva de incorporación al espermatozoide y el porcentaje de unión para los dos tipos de transgén.

Para realizar estos estudios (en ambas experiencias) de unión al ADN y simultáneamente la evaluación de la viabilidad celular fue necesario el empleo de dos fluorocromos. Los espermatozoides fueron incubados con el ADN marcado con fluoresceína más yoduro de propidio (9.6 µl I.P. de la solución stock 500 µg/ml, por cada ml de muestra), y medidos en el citómetro. Al utilizar conjuntamente dos fluorocromos es posible distinguir 4 subpoblaciones que describimos a continuación: 1) Espermatozoides vivos sin ADN unido (Ningún signo de fluorescencia) 2) Espermatozoides vivos con el ADN unido (Únicamente fluorescencia verde) 3) Espermatozoides muertos con ADN unido (Fluorescencia verde y roja) 4) Espermatozoides muertos sin ADN unido (Fluorescencia roja).

Se analizaron, mediante el citómetro de flujo, 10000 células espermáticas por grupo y 3 mediciones en cada tiempo de incubación (0, 15, 30, 60, 90, 120 min), a una velocidad de 500 células/segundo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experiencia 1. Efecto del tratamiento espermático en la interacción ADN exógeno- espermatozoide

Los resultados muestran que tanto la viabilidad espermática como la capacidad de unión al ADN exógeno están afectadas por el tratamiento espermático, el macho utilizado y varía a lo largo del tiempo de incubación. El semen procesado por centrifugación para eliminar el plasma seminal presenta una menor viabilidad que el no lavado (65.10 vs. 72.89) pero por el contrario mejora el porcentaje de unión al ADN (35.76 vs. 29.18). El tratamiento con DMSO tanto al 0.3 como al 3% no mejora ni la viabilidad ni la capacidad de unión al ADN. Los tratamientos que alteran la estructura de la membrana (TritonX100 o procesos

repetidos de congelación descongelación) permiten que el grado de unión al ADN se aproxime a la totalidad, aunque lógicamente la viabilidad es prácticamente nula.

Tabla 1. Valores medios de los porcentajes de unión al ADN exógeno y viabilidad espermática para muestras sometidas a diversos tratamientos (incubación de 0 a 120 min).

Tratamiento	% Espermatozoides vivos	% Espermatozoides unidos	% vivos y unidos
No lavado	72.89±0.61a	29.18±0.63a	2.68±0.11
Intactos	65.10±0.97b	35.76±0.98b	1.40±0.06
DMSO 0,3%	67.56±0.87bc	32.97±0.94bc	1.62±0.06
DMSO 3%	68.66±0.98c	31.95±0.97ac	1.84±0.07
Triton x-100	6.96±0.98d	94.16±0.81d	5.17±0.90
Cong-desc	3.63±0.14e	98.53±0.10d	2.62±0.13

Experiencia 2. Efecto del tamaño del transgén sobre la unión con el espermatozoide

Los resultados muestran que no existe un efecto significativo en los parámetros estudiados asociados al tamaño del transgén utilizado, y el mayor porcentaje de unión tiene lugar en los primeros 15 min de incubación en ambos grupos (Grupo 5Kbp: 13.43±0.74; Grupo 11Kbp: 13.97±0.77), en los siguientes períodos de incubación no es detectado ningún incremento significativo en la unión (Grupo 5Kbp: 14.27±0.88, 14.16±1.05, 13.41±1.11, 13.53±1.26; Grupo 11Kbp: 13.97±0.77 15.23±0.93 15.19±0.92 15.17±1.05; a 30, 60, 90 y 120 min, respectivamente). Además existe un marcado efecto dependiendo del macho utilizado. Por lo que podemos concluir que los espermatozoides de porcino pueden transportar con la misma eficiencia ADN exógeno de 5kbp y 11kbp.

Trabajo financiado por BICARM 10BIO2005/01-6463.

BIBLIOGRAFÍA

- Brackett BG, Boranska W, Sawicki W, Koprowski H. Proc Natl Acad Sci USA 1971, 68:353-357.
- Gordon JW, Ruddle FH. Science. 1981 Dec 11; 214 (4526): 1244-6.
- Lavitrano M, Camanioni A, Fazio VM, Dolci S, Farace MG, Spadafora C. Cell 1989 Jun 2; 57(5): 717-23.
- Lavitrano M, Forni M, Bacci ML, Di Stefano C, Varzi V, Wang H, Seren E. Mol Reprod Dev. 2003 Mar; 64 (3):284-91.
- Li L, Shen W, Min L, Dong H, Sun Y, Pan Q. Reprod Fertil Dev. 2006; 18(6):689-95.
- Perry AC, Wakayama T, Kishikawa H, Kasai T, Okabe M, Toyoda Y, Yanagimachi R. Science. 1999 May 14; 284 (5417): 1180-3.
- Shen W, Li L, Pan Q, Min L, Dong H, Deng J. Mol Reprod Dev. 2006 May; 73(5):589-94.

ESPERMATOZOIDES COMO VECTORES DE ADN EXÓGENO: PRODUCCIÓN DE EMBRIONES PORCINOS TRANSGÉNICOS MEDIANTE DIFERENTES TRATAMIENTOS ESPERMÁTICOS

García-Vázquez, F., Grullón, L., Ruiz, S., ¹Gutiérrez-Adán, A., Gadea, J.
Dept. Fisiología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia.

¹Dept. Reproducción Animal, INIA, Madrid. E-mail: fagarcia@um.es.
<http://www.um.es/grupo-fisiovet>

INTRODUCCIÓN

Bracket *et al.* (1971) fueron los primeros en demostrar que los espermatozoides de los mamíferos tienen la habilidad intrínseca de unirse a ADN exógeno. En 1989, Lavitrano *et al.* usando el ratón como modelo, publican que la capacidad de los espermatozoides de unirse a ADN podría ser usada para introducir ADN exógeno en los ovocitos durante la fecundación para conseguir producir animales transgénicos. Esta publicación generó un gran interés en la comunidad científica porque “la transferencia de ADN por los espermatozoides” era un proceso simple y de bajo coste. Sin embargo, las dificultades en la reproducibilidad y la baja eficiencia en la integración de los transgenes en el genoma del animal, provocó una considerable controversia durante numerosos años (Brinster *et al.*, 1989). No obstante, numerosos trabajos han sido publicados en los últimos años confirmando que los espermatozoides de numerosas especies, incluidas las de granja, y peces, pueden ser usados como vectores para llevar transgenes dentro del genoma del animal (Smith y Spadafora, 2005).

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar el tratamiento espermático más adecuado para la producción *in vitro* de embriones porcinos transgénicos por ICSI, además de la producción de lechones obtenidos por inseminación intrauterina profunda con semen incubado con el transgén.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experiencia 1. Efecto de diferentes tratamientos espermáticos sobre el desarrollo de embriones transgénicos fecundados por ICSI

Esta experiencia se diseñó con el propósito de conocer el tratamiento espermático más adecuado para la obtención del mayor porcentaje de embriones transgénicos y calidad embrionaria en comparación con embriones fecundados con semen intacto. En cada una de las experiencias se ajustó la concentración de la suspensión espermática a 10⁸ células espermáticas/ml a los que se le añadió 5 µg del ADN exógeno/ml. Los tratamientos espermáticos llevados a cabo fueron los siguientes:

- **Semen intacto:** El semen fue preparado por el método descrito por Lavitrano *et al.* (2003). Tras la recogida de la fracción rica del eyaculado y la dilución del semen 1:1 en medio SFM sin BSA, fue trasladado al laboratorio a 37 °C. Posteriormente, se diluyó de nuevo en medio SFM (37 °C) en una proporción de 1:10, y se centrifugó a 800g durante 10 min a 25 °C. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió de nuevo en SFM con BSA a 25 °C, de nuevo se centrifuga a 800g 10 min a 25 °C; se descartó el sobrenadante y se resuspendió en 1 ml de SFM con BSA a 25 °C.

- **Congelación de espermatozoides:** Las pajuelas de semen porcino de 0.5 ml fueron descongeladas en un baño a 52 °C durante 12 segundos, y resuspendidas en SFM (atemperado a 37 °C, ratio 1:5). Se lavó la muestra dos veces mediante centrifugación 10 min (800g y 25 °C) para eliminar el medio de congelación y los restos celulares. Finalmente, el pellet fue resuspendido en medio SFM.

- **Rotura de las membranas por congelación/descongelación rápida:** los espermatozoides intactos se sometieron a un proceso de congelación rápida sumergiendo

las muestras en nitrógeno líquido durante 20 seg, seguido de una inmediata descongelación por inmersión en un baño de agua a temperatura a 37 °C. Este proceso se repitió 3 veces. Posteriormente se confirmó que todas las células espermáticas tenían alteraciones graves de la estructura de su membrana mediante la observación microscópica de las muestras teñidas con yoduro de propidio.

- **Transcriptasa inversa RecA:** Esta experiencia fue realizada para comprobar el efecto de la transcriptasa inversa, denominada RecA, sobre la mejora en la producción de embriones transgénicos en relación con las experiencias anteriores. RecA fue incubada con el transgén (GFP), y luego este complejo formado RecA:ADN se incubó con los espermatozoides. Estos se utilizaron para fecundar los ovocitos por ICSI. Los complejos RecA:ADN fueron preparados como describe Kaneko *et al.* 2005.

Ovocitos madurados *in vitro* fueron inyectados con espermatozoides sometidos a los diferentes tratamientos antes descritos mediante la técnica de ICSI descrita previamente por García-Roselló *et al.* (2006). Las primeras 20h post-inyección los supuestos cigotos se cultivaron en medio TALP, pasado este tiempo se traspasaron a medio de cultivo embrionario NCSU-23. A los 7 días posfecundación se evaluaron los siguientes parámetros::

- **Porcentaje de división embrionaria (% División):** se contabilizó el número de embriones en estadio de 2-4 células con respecto al total de los cigotos que iniciaron el cultivo embrionario.
- **Porcentaje de blastocistos (% Blastocistos):** se valoró como el número de blastocistos con respecto al total de embriones divididos.
- **Porcentaje de embriones transgénicos (% Transgénicos):** se evaluó como el número de embriones que expresaban la proteína verde fluorescente GFP

El total de ovocitos inyectados para el grupo de espermatozoides congelados fueron para el grupo control (intactos): 146, y para el grupo experimental: 143. Para el grupo congelación rápida: Control (Intactos): 105, y congelación rápida: 101. Para el grupo RecA se hicieron 9 replicados con un total de 244 ovocitos inyectados (Intactos: 115; RecA: 129).

Experiencia 2. Inseminación intrauterina profunda con semen incubado con ADN exógeno

Se inseminaron 4 cerdas mediante una sonda de inseminación intrauterina profunda (Fireflex®), con semen incubado con ADN exógeno. El semen fue preparado como se ha descrito en la experiencia anterior, utilizando semen intacto (fresco). Se preparó en una proporción 1000×10^6 espermatozoides/ 250 μ l ADN (EGFP 200ng/ μ l) en un volumen total de 10 ml SFM/BSA. La suspensión se dejó incubando a 16 °C durante 2h, moviendo los tubos cada cierto tiempo para evitar la sedimentación. La muestra fue precalentada a 37 °C 10 min antes de la inseminación. Se realizaron dos inseminaciones espaciadas 12h para cada cerda, con el semen del mismo eyaculado conservado a 16 °C.

A los lechones obtenidos se les valoró tanto la posible expresión del transgén (visualización directa de la GFP mediante lámpara de fluorescencia) como la integración del mismo (análisis mediante PCR).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experiencia 1. Efecto de diferentes tratamientos espermáticos sobre el desarrollo de embriones transgénicos fecundados por ICSI

- **Intacto vs. Congelación rápida:** No se encontraron diferencias significativas en relación a los porcentajes de división en ambos grupos (control 49/105 (46.7%) vs. 39/101 (38.6%), $p=0.25$). Cabe destacar que la división embrionaria se encuentra alrededor de un 40-45%, con unos porcentajes de blastocistos muy bajos para el grupo de los

espermatozoides dañados por congelación. El número de blastocistos obtenidos fue de 25.5% para control y 8.2% para el grupo experimental. En relación a la expresión de los transgénicos, el grupo de los espermatozoides dañados por congelación muestran un aumento significativo de embriones transgénicos (control 50.98 % vs. 75.51%, $p=0.01$), con respecto al grupo control.

- **Intacto vs. Congelado-descongelado:** En los resultados obtenidos para esta experiencia destacamos que no se encontraron diferencias significativas para las variables estudiadas, es decir, división embrionaria por grupos (control 53% vs. 49.4%), porcentaje de blastocistos y de embriones transgénicos (control 37.1% vs. 44.9%).

- **Intacto vs. RecA:** En relación a la expresión del gen es de reseñar el alto porcentaje de embriones transgénicos obtenidos para el grupo RecA, próximo al 90% de expresión, destacando que en 7 de los 9 replicados el total de los embriones expresaban el gen. No se encontraron diferencias significativas tanto para la variable división como para el % de blastocistos obtenidos. Los porcentajes de división se encuentran alrededor de un 50% con unos porcentajes de blastocistos muy bajos para ambos grupos, alrededor de un 11%.

De los resultados obtenidos, concluimos que el uso de la transcriptasa inversa protege las cadenas de ADN de posibles degradaciones por lo que el % de embriones transgénicos obtenidos son próximos al 90% con una calidad embrionaria similar al resto de los grupos, resultando el tratamiento más eficaz para la producción *in vitro* de embriones porcinos transgénicos.

Experiencia 2. Inseminación intrauterina profunda con semen incubado con ADN exógeno

Tres de las cuatro cerdas inseminadas fueron diagnosticadas positivas a la gestación a los 25-28 días tras la fertilización. Una vez transcurrido el período de gestación las cerdas parieron a 4, 8 y 10 lechones respectivamente. La cerda nº 2 parió a 8 lechones, 4 de los cuales nacieron muertos y uno murió pocas horas tras el nacimiento. Todos los lechones mostraron unas condiciones fisiológicas y morfológicas normales, se realizó una necropsia a los lechones nacidos muertos para establecer la causa de la muerte, diagnosticando finalmente la asfixia como causa de la misma. Las pruebas realizadas tanto para conocer la expresión como la integración del transgén GFP para cada uno de los lechones, tanto vivos como muertos, nos proporcionaron unos resultados negativos, no resultando ningún animal transgénico.

Al no obtener ningún animal transgénico por este método podemos pensar que los espermatozoides que transportan el transgén tienen mayor dificultad en el movimiento y por lo tanto por competencia fecundarían antes aquellos espermatozoides que no transportan el transgén.

BIBLIOGRAFÍA

- **Brckett BG, Boranska W, Sawicki W, Koprowski H.** Proc Natl Acad Sci USA 1971 68:353-357.
- **Brinster RL, Sandgren EP, Behringer RR, Palmiter RD.** Cell. 1989 Oct 20; 59(2):239-41.
- **García-Rosello E, Coy P, García Vazquez FA, Ruiz S, Matas C.** Theriogenology. 2006 Nov; 66 (8):1857-65.
- **Kaneko T, Moisyadi S, Suganuma R, Hohn B, Yanagimachi R, Pelczar P.** Theriogenology. 2005 Nov; 64(8):1704-15.
- **Lavitrano M, Camanioni A, Fazio VM, Dolci S, Farace MG, Spadafora C.** Cell 1989 Jun 2; 57(5): 717-23.
- **Lavitrano M, Forni M, Bacci ML, Di Stefano C, Varzi V, Wang H, Seren E.** Mol Reprod Dev. 2003 Mar; 64 (3):284-91.
- **Smith K, Spadafora C.** Bioessays. 2005 May; 27(5):551-62.

DETECCIÓN DE PROTEÍNAS ASOCIADAS A LA GESTACIÓN (PAG) SECRETADAS POR EMBRIONES PREIMPLANTACIONALES DE RUMIANTES DOMÉSTICOS

Serrano, B.¹, Yániz, J.², Sanz, A.¹, López-Gatius, F.³, Garbayo, J.M.¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Ctra. de Montañana, 930; 50059. Zaragoza. bserranop@aragon.es

² Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza, Huesca.

³ Departamento de Producción Animal. Universidad de Lleida, Lleida.

INTRODUCCIÓN

La complejidad de los mecanismos que intervienen en la implantación y el desarrollo placentario hacen que todavía se desconozca el papel de muchas de las moléculas presentes en el proceso de la gestación. Las proteínas asociadas a la gestación (PAG) son, junto con moléculas como el lactógeno placentario y el IFN- τ , producto de las células trofoblásticas del embrión y tejido placentario de mamíferos ungulados. La conservación y homología de las PAG presentes en animales de los órdenes *Artiodactyla*, *Perisodactyla*, *Carnivora* y *Rodentia* proporcionan una idea de su importancia en la fisiología de la reproducción (Hughes *et al.*, 2003).

En rumiantes, las PAGs se expresan en las células mononucleadas ó binucleadas del trofotodermo, desde donde son secretadas al torrente sanguíneo materno (Wooding *et al.*, 2005). El estudio de la expresión de ARNm en la placenta de rumiantes ha revelado la existencia de multitud de genes de PAG pero, pese a los esfuerzos realizados, el número de proteínas purificadas es muy inferior al número de ADNc detectados (Xie *et al.*, 1997b). La elevada homología que caracteriza estas moléculas dificulta la purificación y aislamiento de formas simples, por lo que sólo se ha conseguido analizar la secuencia de un número muy reducido de PAGs.

La purificación de PAGs nativas o recombinantes ha permitido la puesta a punto de técnicas de diagnóstico de la gestación mediante RIA o ELISA, así como su empleo como marcadores de desordenes metabólicos asociados a la gestación, tanto en especies de rumiantes domésticas como en salvajes (Sousa *et al.*, 2006). Algunas características de las PAGs, como la expresión temporal de la mayoría de sus miembros o la variabilidad en el patrón de glicosilación que determina la vida media de la molécula en el medio materno, afectan la optimización de dichas técnicas.

En la actualidad, el empleo de lectinas específicas de las cadenas de carbohidratos presentes en las PAGs ha permitido una mejora de los protocolos de purificación (Klisch *et al.*, 2005), así como un mayor conocimiento del mecanismo de glicosilación post-traduccional producido en la placenta (Klisch *et al.*, 2006). El objetivo de este trabajo fue la detección y el estudio de las PAG secretadas al seno uterino por embriones preimplantacionales de rumiantes domésticos mediante el empleo de anticuerpos específicos y la lectina *Vicia Villosa*.

MATERIAL Y MÉTODOS

El aislamiento de las PAGs se realizó a partir de los fluidos uterinos obtenidos en la recuperación de embriones ovinos de raza Rasa Aragonesa (día 15 y 17), caprinos de raza Blanca Celtibérica (día 16 y 18) y bovinos de raza Pirenaica (día 16), según el protocolo descrito por Garbayo *et al.*, (2007). Los fluidos recolectados se procesaron según el día y la especie, se dializaron en tampón Tris-HCl 50 mM ph 8 a 4º C y se concentraron en tubos Amicon Ultra de 15 ml (Millipore). La concentración total de proteína se midió por el método Bradford (Coomassie Protein Assay Kit, Pierce 23200), usando Albúmina sérica bovina como estándar. Los extractos proteicos obtenidos se redujeron con tampón SDS-sample (50

mM Tris-HCl pH 6.8, 10% Glicerol y 0.5% (w/v) Bromofenol blue) y se separaron aproximadamente 50 µg de cada muestra mediante electroforesis SDS-PAGE en geles del 4-12%. Las proteínas separadas se transfirieron a membranas Immobilon P (Millipore) y se incubaron separadamente con la lectina *Vicia Villosa* (Vector Laboratories) y el suero anti-caPAG 706+707 (cortesía del Dr. J. F. Beckers), siguiendo el protocolo descrito por Klisch *et al.* (2005).

El tratamiento con la enzima PNGasa F (New England Biolabs) para la digestión de las N-glicosilaciones presentes en las PAGs se realizó según las instrucciones del fabricante. Las muestras digeridas se separaron en electroforesis SDS-PAGE, se transfirieron a membranas de nitrocelulosa y se analizaron mediante Western blot con el suero anti-caPAG 706+707.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de inmunodetección con la lectina *Vicia villosa* y el anticuerpo anti-caPAG 706+707 confirmaron la presencia de moléculas relacionadas con las PAGs bovinas, caprinas y ovinas secretadas en el seno uterino en el momento de la implantación. Se detectó, tanto con el anticuerpo como con la lectina, una molécula de un peso molecular aparentemente de 66 kDa en todos los fluidos uterinos (Fig. 1), que además coincidió con el tamaño de la primera proteína bovina purificada (boPAG1) por Zoli *et al.* (1991). También se detectaron, por el anticuerpo y muy levemente por la lectina, varias bandas de 82 kDa y 53 kDa tanto en los fluidos uterinos ovinos como los caprinos. Previamente, otros autores también han descrito moléculas de PAG de tamaño similar en ovino (Xie *et al.*, 1997a), caprino (Garbayo *et al.*, 1998) y bovino (Klisch *et al.*, 2005).

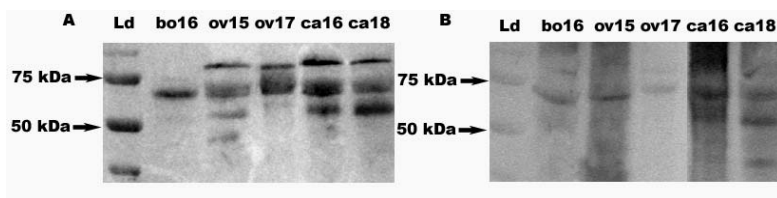


Figura 1. Western blot con suero anti-caPAG 706+707 (A) y lectina *Vicia Villosa* (B) en fluidos uterinos obtenidos en la recuperación de embriones bovinos (16 días), ovinos (15 y 17 días) y caprinos (16 y 18 días).

Como ocurre en otros miembros de la familia de las proteasas aspárticas, las PAGs poseen una estructura de 380 aminoácidos que correspondería con un peso molecular teórico de 42 kDa. Sin embargo, el peso inferido a partir de su ADNc no se corresponde con el tamaño detectado en SDS-PAGE, que puede variar entre 47 y 90 kDa (Xie *et al.*, 1996). Esta variación en el tamaño puede ser debida al proceso de glicosilación post-traduccional producido en la placenta.

Para estudiar este fenómeno se realizó un tratamiento con PNGasa F que redujo el peso molecular de las bandas detectadas en los fluidos uterinos ovinos y caprinos de 82 kDa y 53 kDa, a 77 kDa y 47 kDa, respectivamente (Fig. 2). En los fluidos uterinos bovinos, el patrón de glicosilación de la proteína detectada anteriormente por el anticuerpo apenas se pudo observar, posiblemente debido a la baja concentración de la proteína. La reducción mostrada por las moléculas era semejante a la descrita por Xie *et al.* (1996) en la ovPAG1, purificada en placenta ovina de entre 15 y 25 días. El número de N-glicosilaciones presentes en las PAG en el contexto N-x-T/S pueden variar entre 1 y 7 (Xie *et al.*, 1997b). La variabilidad existente en el grado de glicosilación parece ser un factor fundamental que regula la vida media de la proteína en el plasma, de ahí su importancia para optimizar el diagnóstico de gestación basado en la PAG (Klisch *et al.*, 2005).

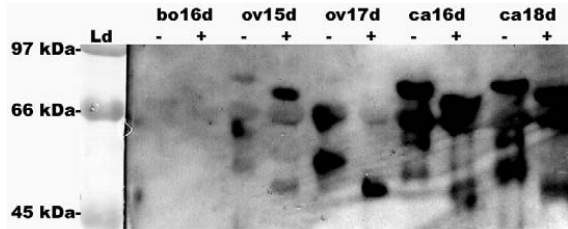


Figura 2. Western blot con anti-caPAG 706+707 de la digestión con PNGasa F realizada a los fluidos uterinos obtenidos en la recuperación de embriones bovinos (16 días), ovinos (15 y 17 días) y caprinos (16 y 18 días).

La inmunoreactividad mostrada por el anticuerpo de origen caprino frente a las proteínas ovinas y bovinas se debe a que las PAG de las tres especies se encuentran filogenéticamente muy cercanas e incluso entremezcladas, como es el caso del subgrupo formado por la *ovPAG10*, *ovPAG11*, *caPAG12* y *boPAG15*, expresadas en las células binucleadas del trofotodermo al comienzo de la gestación y con una similitud en torno al 94% a nivel de nucleótidos (Garbayo *et al.*, 2007). Pese a la baja intensidad de las bandas detectadas por la lectina *Vicia Villosa*, la similitud mostrada con las bandas detectadas por el anticuerpo confirma su utilidad para la purificación de las PAGs secretadas al comienzo de la gestación.

De estos resultados se desprende que las primeras glicoproteínas asociadas a la gestación (PAG) producidas en el momento de la implantación son detectadas tanto por la mezcla de anticuerpos 706+707 como por la lectina *Vicia Villosa*, por lo que pueden ser herramientas clave para el estudio del papel que desempeñan las PAG expresadas en rumiantes domésticos durante el periodo implantacional.

La posible detección de las PAGs en plasma o leche tendrá que ser objeto de futuros trabajos, puesto que, de confirmarse este hecho, podría servir para desarrollar nuevos métodos de diagnóstico de gestación temprana en rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Garbayo, J.M., Remy, B., Alabart, J.L., Folch, J., Wattiez, R., Falmagne, P., Beckers, J.F., 1998. *Biol. Reprod.* 58, 109-115.
- Garbayo, J.M., Serrano, B., Lopez-Gatius, F. 2007. *Anim. Reprod. Sci.* (in press).
- Hughes, A.L., Green, J.A., Piontkivska, H., Roberts, R.M. 2003. *Mol. Biol. Evol.*, 20, 1940-1945.
- Klisch, K., Sousa, N., Beckers, J., Leiser, R., Pich, A. 2005. *Mol. Reprod. Dev.*, 71, 453-460.
- Klisch, K., Boos, A., Friedrich, M., Herzog, K., Feldmann, M., Sousa, N., Beckers, J. F., Leiser, R., Schuler, G. 2006. *Reproduction*, 132, 791-798.
- Sousa N. M., Ayad, A., Beckers, J.F., Gajewsky, Z. 2006. *J. Physiol. Pharmacol.*, 57, suppl 8, 153-171.
- Wooding, F.B.P., Roberts, R.M., Green, J.A. 2005. *Placenta*, 26, 807-827.
- Xie, S., Nagel, R.J., Green, J.A., Beckers, J.F., Roberts, R.M. 1996. *Biol. Reprod.*, 54, 122-129.
- Xie, S., Green, J.A., Bao, B., Beckers, J.F., Valdez, K.E., Hakami, L., Roberts, R.M. 1997a. *Biol. Reprod.*, 57, 1384-1393.
- Xie, S., Green, J.A., Bixby, J.B., Szafranska, B., DeMartini, J.C., Hecht, S., Roberts, R.M. 1997b. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 12809-12816.
- Zoli AP, Beckers J.F., Wouters-Ballman P, Closset J, Falmagne P, Ectors F. 1991. *Biol. Reprod.*, 45, 1-10.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL EN EMBRIONES VITRIFICADOS: SEXAJE DE EMBRIONES Y GENOTIPADO DEL GEN DE RESISTENCIA AL SCRAPIE. RESULTADOS PRELIMINARES.

Dervishi, E.¹, Martínez- Royo, A.¹, Sánchez, P.¹, Alabart, J.L.¹, Cocero, M.J.², Folch, J.¹, Calvo, J.H.¹

¹Unidad de Tecnología en Producción Animal. CITA. Avda de Montañana, 930. 50059-Zaragoza.

²Dpto. Reproducción Animal. SGIT/INIA. Av. Puerta de Hierro s/n. 28040-Madrid.

E-mail: eda_d2001@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

El Diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es una técnica que resulta de la combinación de las técnicas de producción "in vitro" o "in vivo" de embriones y las técnicas de genética molecular. Actualmente, se han desarrollado técnicas de diagnóstico molecular en embriones que permiten detectar, a partir de una o más células embrionarias, enfermedades genéticas o alelos que presenten ventajas productivas, y realizar así implantación de sólo aquellos embriones sanos y que presenten ventajas productivas ("selección embrionaria").

Dentro del Programa de mejora genética por prolificidad puesto en marcha por la UPRA-Carnes Oviaragón desde 1994 se contempla que la producción de machos que van a ser testados se realice a través de un programa basado en la técnica MOET (Multiple Ovulation and Embryo Transfer). Dicha técnica consiste en superovular las hembras de alto valor genético, inseminarlas con semen de machos mejorantes, obtener los embriones resultantes y transferirlos a otras hembras receptoras. Esta tecnología permite explotar mejor el potencial genético de los animales y acelerar la velocidad de selección (Nicholas, 1996). Como el interés del programa de selección se centra en la producción del mayor número posible de machos, la técnica sería más rentable y efectiva si se pudiese conocer el sexo de los embriones obtenidos, sin que disminuyese su viabilidad, transfiriendo únicamente los machos. Por otra parte, las directrices de erradicación del scrapie mediante selección genética han provocado una disminución en la proporción de machos válidos para testar, lo que ha ocasionado una disminución importante en la rentabilidad de la técnica.

El scrapie pertenece al grupo de las encefalopatías espongiiformes transmisibles (EETs), las cuales engloban un grupo de enfermedades neurodegenerativas causadas por priones que afectan a diferentes especies animales incluida la humana. Estas enfermedades se caracterizan por presentar alteraciones neurológicas y afectar a distintas zonas del sistema nervioso central produciendo vacuolización neuronal y una gliosis muy marcada, lo que confiere al tejido neuronal un aspecto espongiiforme (Kordek, 2000). El estudio de factores genéticos relacionados con las EETs ha puesto de manifiesto una fuerte asociación entre tres de los codones del gen *Prn-P* (136, 154 y 171) que parecen mostrar influencia sobre la susceptibilidad a esta patología (Hunter, 1997; Chesebro, 1999). Según su genotipo, los animales se clasifican en 5 grupos (R1 a R5), de mayor a menor resistencia a padecer scrapie. Las distintas CCAA han adoptado Normativas para impulsar, que de forma progresiva, los ganaderos vayan seleccionando los moruecos de genotipos resistentes al Scrapie, con vistas a eliminar la enfermedad por la vía genética. Para cumplir con la Normativa de Aragón, en el Programa de selección de UPRA-Carnes Oviaragón se contempla que los machos mejorantes del esquema sean de los grupos de riesgo a scrapie R1, R2, y excepcionalmente R3, pero con tendencia a ir eliminando los animales de este grupo. Estas actuaciones han provocado una disminución del número de machos válidos para testar, ya que la mayor parte de la población de Rasa aragonesa es ARQ/ARQ (R4), lo que ha repercutido de una manera importante en la eficacia de la técnica.

De esta manera, el objetivo de este trabajo es la puesta a punto de una técnica de sexado y genotipado del gen *PrnP*, para la selección de embriones a implantar en un programa MOET, dentro del esquema de selección por prolificidad puesto en marcha por la UPRA-Carnes Oviaragón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Biopsia y cultivo embrionario. Se utilizaron mórulas compactadas o blastocistos ovinos descongelados después de haber sido vitrificados. La extracción de las células de los embriones se realizó mediante aspiración a través de una pequeña perforación en la membrana pelúcida. A continuación, los embriones se cultivaron en M199 a 38.5 °C y 5% de CO₂ en aire para observar su desarrollo “in vitro” durante 24 h.

Extracción de ADN. La extracción de ADN se realizó a partir de diferente número de células embrionarias, mediante el kit de extracción “BLOODCLEAN DNA Purification kit” (Biotools). Hasta el momento de redactar este trabajo se han analizado biopsias de 15 embriones, con diferente número de células.

Previo a los ensayos con embriones, se realizaron pruebas de sensibilidad mediante dilución a partir de ADN genómico extraído de células sanguíneas, tanto de animales machos como hembras. Las diluciones utilizadas contenían 1 ng y 500, 200, 100, 50 pg de ADN. Igualmente, se comprobó la fiabilidad de la técnica en 50 machos y 50 hembras de raza Rasa Aragonesa. Las extracciones de ADN se realizaron con el método de Lahiri *et al.* (1992).

PCR duplex. El sexaje de embriones se realizó mediante PCR duplex, que consiste en una doble amplificación de dos fragmentos de ADN mediante PCR, uno del gen *PrnP*, gen responsable de parte de la susceptibilidad/resistencia al scrapie, que amplifica tanto en machos como en hembras, y por otra parte el fragmento repetido de ADN del cromosoma Y (*Acc number U65982*), que sólo amplifica en los machos.

La amplificación se realizó en un volumen final de 25 µl conteniendo 5 pmol de cada cebador: PrnP F 5'- ccc atg aag cca aaa acc aa -3, PrnP 2R 5'- cgc tcc att atc ttg atg tca g-3', REP F 5'- ctggct tcttgat gtcc-3' y REP R 5'- gcttccat caacctccac-3', 200 nM dNTPs, 2mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 0.1% Triton X-100 y 0.9 U Taq polimerasa y 0.1 U de Pfu (Biotools). Se realizaron 30 ciclos de amplificación con un paso de desnaturalización a 94°C durante 45 s, de hibridación a 60°C durante 45 s, y de extensión a 72°C durante 45 s. La visualización del producto amplificado se realizó mediante electroforesis de 20 µl de la amplificación en geles de agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio.

Genotipado de los tres codones del PrnP. Una vez puesta a punto la amplificación se realizó el genotipado de los tres codones relacionados con la resistencia al scrapie: Al término de la PCR duplex, se tomaron 2 µl del producto amplificado y se utilizaron en una reamplificación usando las mismas condiciones, con excepción de que se realizaron 20 ciclos de amplificación. Se secuenciaron los 320 pares de bases utilizando el cebador PRNPF-5'- ccc atg aag cca aaa acc aa -3 para la amplificación. Tras la purificación, se enviaron a secuenciar al Centro de Investigaciones Biológicas perteneciente al CSIC en Madrid. Los resultados se reciben en 3 días. Las secuencias se alinearon con el programa CLUSTALW.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la metodología descrita, en las muestras procedentes de hembras aparece una única banda de 320 pb, mientras que en las muestras procedentes de machos aparecen dos bandas de 186 y 320 pb (Figura 1). Los estudios de especificidad mostraron una concordancia total entre el fenotipo y los resultados de la PCR duplex. Los estudios de sensibilidad a partir de ADN genómico extraído de sangre mostraron un límite mínimo de detección de 50 pg de ADN, para el fragmento específico del cromosoma Y, y el fragmento control (*PrnP*), cantidad de ADN similar a la contenida en una célula (Figura 1). En la Figura 1 se puede observar la mayor intensidad del fragmento Y, con respecto al fragmento control (PrnP), debido a que dicho fragmento presenta al menos tres copias en el genoma ovino. En ensayos con diferente número de células procedentes de biopsias embrionarias se encontró que se puede detectar un embrión macho, y ser capaces de genotipar los 3 codones del *PrnP* a partir de 3 células. Con una única célula se observó que aunque las PCRs amplifican con éxito el fragmento específico del macho, el fragmento control *PrnP* falla en algunos casos, no pudiéndose obtener los resultados de genotipado del PrnP.

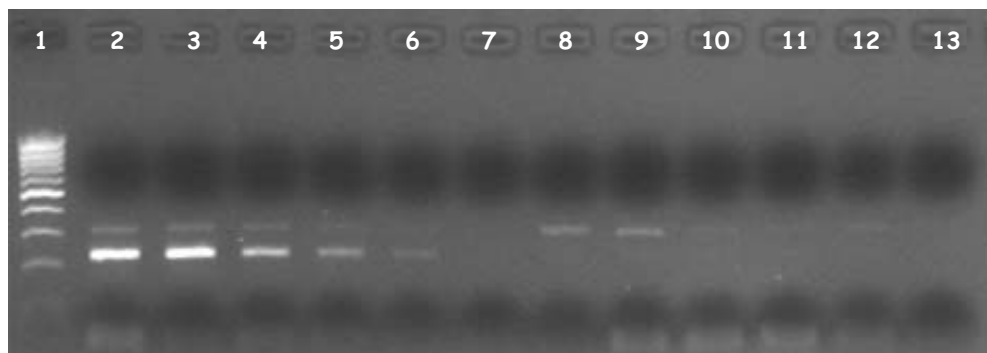
En todos los ensayos realizados, los embriones biopsiados experimentaron un desarrollo óptimo cuando fueron cultivados “in vitro”.

Nuestros resultados indican que es posible realizar el sexaje de embriones ovinos y genotipado del gen *PrnP* a partir de tres células embrionarias, sin producir un daño al embrión que afecte a su crecimiento futuro. Si sólo se desea conocer el sexo, los resultados se obtienen en pocas horas a partir de sólo una célula, lo que permite mantener los embriones en cultivo y transferirlos “en fresco”, sin necesidad de congelación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado a través del proyecto CDTI nº 2004-611. Elda Dervishi tiene una beca concedida por el Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ-CIHEAM).

Figura 1. Estudios de sensibilidad de la PCR duplex a partir de ADN genómico extraído de sangre de los genes *U65982* y *PrnP*, en la que se puede ver la amplificación de dos fragmentos de 186 y 320 pares de bases en los machos, y un único fragmento de 320 pares de bases en las hembras. Línea 1: Marcador de talla; línea 2: macho, 1ng; línea 3: macho, 500 pg; línea 4: macho, 200 pg; línea 5: macho, 100 pg; línea 6: macho, 50 pg; línea 7: control negativo; línea 8: hembra, 1ng; línea 9: hembra, 500 pg; línea 10: hembra, 200 pg; línea 11: hembra, 100 pg; línea 12: hembra, 50 pg; línea 13: control negativo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chesebro, B. 1999. Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathy diseases. *Neuron* 24:503–506.
- Hunter, N., Moore, L., Hosie, B. D., Dingwall, W. S., Greig, A. 1997. Association between natural scrapie and PrP genotype in a flock of Suffolk sheep in Scotland. *Vet Rec* 140, 59–63.
- Kordek, R. 2000. The diagnosis of human prion diseases. *Folia Neuropathol.* 38(4):151-60.
- Lahiri, D.K., Bye, S., Nurnberger, J.I., Hodes, M.E., Crisp, M. 1992. A nonorganic and nonenzymatic extraction method gives higher yields of genomic DNA from whole-blood samples than other methods tested. *J. Biochem. Biophys. Meth* 25 (4): 193-205.
- Nicholas, F.W. 1996. Genetic improvement through reproductive technology. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 205-214.

¿DESEMPEÑA LA SEROSA PERITONEAL UN PAPEL ACTIVO EN LA FISIOLÓGIA REPRODUCTIVA DE LA CERDA?

Yániz, J.¹, Santolaria, P.¹, Hunter, R.H.F.², López-Gatius, F.³

¹Dept. Producción Animal. Universidad de Zaragoza, Huesca, Spain. jyaniz@unizar.es

²Unit for Reproduction of Clinics. University of Veterinary Medicine. Hanoffer Foundation. Büntenweg 15 30559 Hanoffer. Germany.

³Dept. Producción Animal. Universidad de Lleida. 25198 Lleida. Spain.

INTRODUCCION

El peritoneo es más que una superficie deslizante, antiadherente y protectora. También juega un papel importante en muchos acontecimientos que suceden en la cavidad peritoneal, tales como el transporte trans-peritoneal de moléculas y fluidos, la presentación de antígenos, la inflamación y reparación tisular, la coagulación y fibrinólisis, y la adhesión de células tumorales (Mutsaers, 2004). Algunos indicios sugieren que las células mesoteliales de la serosa peritoneal participan también activamente en la síntesis y liberación de sustancias hacia la cavidad peritoneal, contribuyendo en la formación del líquido peritoneal.

No existe una barrera selectiva que separe el líquido peritoneal y el oviductal. Es posible que el fluido peritoneal o sus constituyentes puedan entrar en los oviductos, especialmente en el momento de la ovulación, en el que se crean corrientes para transportar los ovocitos (Soldati *et al.*, 1993). Por lo tanto, el microambiente en el que suceden las interacciones de los gametos in vivo puede estar constituido no sólo por líquido oviductal sino también por líquido peritoneal y folicular.

Existen grandes diferencias en la cantidad de líquido peritoneal que producen las especies de animales domésticos, por lo que su participación en la fisiología reproductiva puede ser también muy variable. En los extremos tenemos a la vaca, que apenas produce líquido peritoneal, y la cerda, con abundante líquido peritoneal, sobre todo tras la ovulación. En este trabajo hemos estudiado la ultraestructura de la serosa peritoneal que cubre el tracto genital en la cerda para determinar el grado de actividad funcional y secretora de las células mesoteliales de la serosa, como indicadores de su participación en la formación del líquido peritoneal. En estudios previos se ha descrito la superficie serosa de la bolsa ovárica en el hámster (Martin *et al.*, 1981), la serosa que cubre el ligamento ancho de la cerda en un estudio somero con microscopio electrónico de barrido (Doboszynska *et al.*, 1999), y el mesotelio que recubre el tracto genital y estructuras adyacentes en la vaca (Yániz *et al.*, 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

La superficie serosa peritoneal de 14 cerdas, 7 en la fase folicular del ciclo éstrico y 7 en la fase luteal se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). El mesotelio de cinco cerdas más, 3 en fase folicular y 2 en fase luteal, se examinó mediante microscopía electrónica de transmisión (MET).

Las muestras se tomaron del infundíbulo, ampolla, istmo, ápice del cuerno uterino y ligamento ancho. Inmediatamente tras el sacrificio, las piezas se sumergieron en una solución de glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato. Tras un periodo de fijación de 24 horas a 4°C, se postfijaron con tetraóxido de osmio durante 1 hora y se deshidrataron en gradientes crecientes de acetona.

Posteriormente, las muestras destinadas a MEB se secaron por punto crítico, se colocaron en los soportes y se recubrieron con carbón y oro. La observación se realizó con

un microscopio electrónico de barrido Zeiss DSM 940 a 15 kV. Las muestras destinadas a MET se incluyeron en bloques de araldita. Se realizaron primero cortes semi-finos de 1 µm de grosor y se tiñeron con azul de toluidina para su observación en el microscopio electrónico. Posteriormente se realizaron cortes ultra-finos de las áreas seleccionadas utilizando una cuchilla de diamante en el ultramicrotomo. Los cortes ultra-finos se colocaron en rejillas de cobre, se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se examinaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM910 a 80 kV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las observaciones mediante MEB de la cara externa del infundíbulo de la cerda revelaron que la mucosa oviductal (endosálpinx) sobrepasa el margen libre, continuando hacia la cara externa, en la que forman una banda de varios mm en la que se aprecia la presencia de formaciones polipoides. La transición entre la mucosa y la serosa es gradual, con células del epitelio de la mucosa oviductal (endosálpinx) avanzando hacia la zona mesotelial individualmente o en grupos. La presencia de grupos de células del epitelio oviductal se observó incluso en la serosa que cubre la ampolla. La peculiaridad del oviducto de ser el único órgano que se abre hacia la cavidad peritoneal determina una continuidad entre la mucosa oviductal y la serosa en el infundíbulo.

En la cerda, al igual que describimos previamente en la vaca (Yániz *et al.*, 2000), la transición entre ambos epitelios no se encuentra exactamente en el margen libre, sino desplazada hacia la cara peritoneal (Fig. 1). A diferencia de la vaca, la transición entre la mucosa y la serosa es gradual y la presencia de células del endosálpinx incluso hasta la ampolla determina la existencia de células secretoras que producen sustancias propias del fluido oviductal y las liberan a la cavidad peritoneal, contribuyendo a la formación del líquido peritoneal. Por otro lado, la presencia de un epitelio densamente ciliado en la cara externa del infundíbulo y la ampolla durante la fase folicular puede contribuir a la formación de corrientes para la captación de los ovocitos tras la ovulación.

En cuanto a las células mesoteliales, las imágenes del MEB mostraron indicios de elevada actividad biosintética y secretora de las células mesoteliales. En ellas se observaron unas células mesoteliales prominentes y cubiertas por una densa capa de microvellosidades largas, que a menudo impedía observar los límites celulares. En la mayoría de las muestras se observó también una abundancia de prominencias bulbosas, que se desprenden de la superficie celular (Fig. 2) y de cilios solitarios.

Las imágenes del MET permitieron apreciar unas células mesoteliales redondeadas, a menudo con una proyección basal hacia el estroma. El núcleo mostró un aspecto irregular y un nucleolo bien desarrollado. El citoplasma contenía muchos ribosomas libres, abundante retículo endoplásmico rugoso (RER), un aparato de Golgi bien desarrollado (frecuentemente varios por célula), así como un sistema vesicular muy desarrollado compuesto por vesículas, vacuolas, complejos vesículo-vacuolares y cuerpos multivesiculares. También se observó la presencia de cuerpos laminares aislados en el citoplasma de las células mesoteliales. Las uniones intercelulares son complejas y tortuosas, con la presencia frecuente de dilataciones intercelulares asociadas a vacuolas o cuerpos laminares que varían en tamaño. Las vesículas, vacuolas y formaciones multivesiculares se proyectan hacia la superficie externa de las células, mostrando un proceso activo de secreción.

Todas las observaciones realizadas indican que tienen una importante actividad biosintética y secretora en las zonas estudiadas, por lo que podrían contribuir a la formación del líquido peritoneal y por lo tanto del oviductal. Aunque a menudo se describe el mesotelio como una capa de células aplanadas poligonales, la presencia de células mesoteliales cúbicas se ha descrito también en otros estudios, asociado a una mayor actividad biosintética de estas células (Bird, 2004; Mutsaers, 2004). Otros signos de activación de las células mesoteliales son la abundancia de microvellosidades, de cilios solitarios y de

vesículas en la superficie (Bird, 2004). En nuestro estudio hemos corroborado además esta importante actividad funcional mediante estudios de microscopía electrónica de transmisión.

No se observaron diferencias morfológicas claras entre las diferentes regiones analizadas ni entre la fase folicular y luteal, aunque la comprobación de este aspecto requiere la realización de estudios morfométricos más exhaustivos.

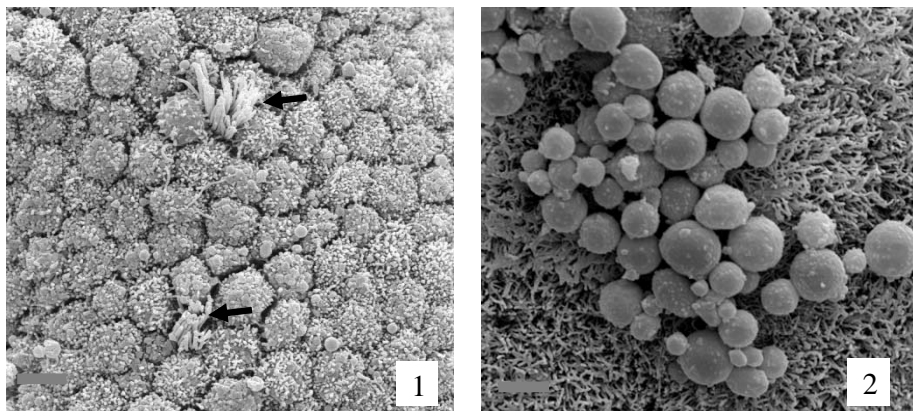


Fig. 1. Esta imagen ilustra la presencia de células ciliadas individuales propias del endosalpinx (flechas) entre las células mesoteliales de la cara externa del infundíbulo, en una zona próxima a la ampolla. Barra de escala = 6 μ m.

Fig. 2. Esta fotografía de la superficie serosa muestra la acumulación de prominencias secretoras observada en algunas muestras. Barra de escala = 5 μ m.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bird SD. 2004. Mesothelial primary cilia of peritoneal and other serosal surfaces *Cell Biology International* 28:151–159.
- Doboszynska T, Andronowska A, Janiszewska L, Sobotka A. 1999. Morphological features of lymphatic and mesothelial communications in the broad ligament of the pig. *Lymphology* 32:132-150.
- Martin GG, Sack M, Talbot P. 1981. The structure of bursae ovaricae surrounding the ovaries of the golden hamster. *Anat Rec* 201:485-498.
- Mutsaers SE. 2004. The mesothelial cells. *Int J Biochem & Cell Biol* 36: 9-16.
- Soldati GA, Piffaretti Yanez A, Medici G, Eppenberger U, Balerna M. 1993. Purification of a factor from human peritoneal fluid that is able to immobilize spermatozoa. *Hum Reprod* 8:428-36.
- Yániz JL, Santolaria P, López-Béjar M, Rutllant P, López-Gatius F. 2000. A scanning electron microscopy study of the peritoneal mesothelium covering the genital area in the cow. *Anat Histol Embryol* 29:149-155.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Matadero Municipal de Huesca y Matadero de Zuera por su ayuda en la obtención de muestras de cerda y al Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Lleida por su asistencia técnica.

RESULTADOS DE UN PROGRAMA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE GALLINAS DE GUINEA

Muriel, A., Serrano, A.
Centro de Investigación La Orden-Valdesequera. Junta de Extremadura
06187-Guadajira (Badajoz)
angel.muriel@juntaextremadura.net

INTRODUCCIÓN

Las gallinas de Guinea o pintadas (*Numida meleagris*) son aves originarias del continente africano. En España, tanto su producción como el consumo de su carne no tienen significación y según un informe promovido por el MAPA y presentado en 2005 sobre la situación actual de las producciones alternativas de carne de ave en España, la producción anual de carne de pintada se estima en 140 toneladas de peso canal (Cepero, 2005). En este mismo informe se concluye que debido a la falta de granjas de multiplicación en España, dependiendo en este aspecto de Francia, así como a las dificultades de su reproducción, que requiere de la inseminación artificial, se prevé que el crecimiento futuro de esta producción ganadera sea muy problemático.

La Junta de Extremadura, desde 1998, posee en la finca Valdesequera (Badajoz) una población de pintadas con la que se desarrollan ciclos completos de producción (Muriel, 2005a) y diversos trabajos de experimentación (Del Moral *et al.*, 1998 y 2004; Muriel, 2004 y 2005b; López *et al.*, 2005).

En el período 2004-2005, para atender las necesidades de nuestro centro, se planificó un calendario de reproducciones y de 18 incubaciones. Ante los desalentadores resultados obtenidos en 2004 se procedió a realizar una revisión del manejo realizado en el período de reproducción y durante las incubaciones y se realizaron modificaciones para los trabajos de 2005.

El objetivo de este estudio es mostrar los resultados obtenidos en este programa de reproducción-incubación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En noviembre de 2003, 224 hembras y 96 machos de 23 semanas de edad fueron alojados en jaulas individuales en una nave de ambiente no controlado hasta cumplir 70 semanas de edad. Estos animales procedían del mismo lote de nacimientos y su alimentación y manejo había sido idéntica. A la entrada en jaulas se les aplicó un fotoperíodo de 14 horas y las hembras recibieron durante todo el período de control un pienso comercial presentado en harina con 2800 kcal EM, 18% PB y 4% Calcio. Los machos también recibieron un pienso en harina pero con 2700 kcal EM y 16% PB.

Para la recogida de semen se utilizó el método de Burrows y Quinn (1935). Como colector utilizamos placas de Petri de 3 cm de diámetro. Las hembras fueron inseminadas dos veces a la semana con semen fresco procedente de la mezcla de 16 eyaculados y utilizado dentro de los 20 minutos siguientes a su recogida. Para la inseminación de las gallinas utilizamos una micropipeta graduada en 30 µl con la que pretendíamos inocular, al menos, 100 millones de espermatozoides por inseminación. Durante los días que se realizaron los trabajos de reproducción la temperatura de la nave osciló entre 8 y 33°C.

La recogida de los huevos con destino a la incubadora se inició 2 días después de la primera inseminación. Se realizaba una vez al día (a las 16 horas), los huevos eran marcados y trasladados a una cámara de conservación con una temperatura de 14-15°C y una HR del 80%. Los huevos fueron conservados con el pico agudo hacia abajo.

Los huevos fueron introducidos en la incubadora con hasta 16 días de almacenamiento en las 9 incubaciones realizadas en 2004. El período de incubación (28 días) transcurrió entre la incubadora (0-25 días) y la nacedora (25-28 días). Para la

incubadora se programó una temperatura de 37,2°C, una HR de 50% y un volteo cada 60 minutos. En la nacedora se programó una temperatura de 37°C y una HR de 80%.

En octubre de 2004 fueron desalojados los reproductores utilizados durante ese año y sustituidos en noviembre por otro grupo con igual n° de efectivos. Durante 2005 se realizaron otras 9 incubaciones y las modificaciones en la metodología utilizada para la producción de pintadas consistió en reducir de 16 a 8 el n° de machos ordeñados antes de la inseminación de las hembras, programar la cámara de conservación de huevos a una temperatura que osciló entre 12-13°C, reducir el n° de días de almacenamiento de los huevos en la cámara y realizar el encendido de la nacedora la víspera de la transferencia de los huevos. En 2005, durante los días que se realizaron los trabajos de reproducción la Tª de la nave osciló entre 6 y 36°C. Una descripción más detallada de los trabajos de reproducción y de incubación se presentó en un trabajo previo (Muriel y Serrano, 2006).

Para cada una de las incubaciones realizadas se contó el n° de huevos cargados y en los nacimientos el n° de pollos nacidos para calcular la tasa de nacimientos. También se calculó el porcentaje de pollos de 2ª calidad (traje) obtenidos en la nacedora. Además se realizó una estima de la fertilidad y de la incubabilidad de cada lote de incubación según el procedimiento descrito por Mauldin (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla 1** aparecen reflejados los resultados obtenidos durante el primer año de este estudio. Observamos que partiendo de huevos con un porcentaje elevado de fertilidad, sin embargo, la tasa de nacimientos obtenida era muy baja comparada con el 68-74% que se obtiene a nivel comercial con reproductoras de élite y en naves de ambiente controlado. Estos resultados fueron la consecuencia de la baja incubabilidad obtenida para los huevos fértiles (43,77%). También observamos que, de media, un 5,71% de los pollos eran de baja calidad y tenían que ser sacrificados en la sala de nacimientos, sobre todo debido a que presentaban las extremidades inferiores abiertas.

Por tanto, estos resultados mostraban que la incubabilidad de los huevos de pintada incubados artificialmente había que mejorarla identificando y modificando factores intrínsecos (los que afectan a la calidad del huevo incubable) y extrínsecos (los implicados en el proceso de incubación).

Los resultados obtenidos en 2005 se muestran en la **tabla 2**. Se observó una mejora en la incubabilidad de los huevos fértiles (61,59%) y en la tasa de nacimientos (54%). También disminuyó el número de pollos de 2ª calidad recogidos de la nacedora (2,40%). Destacar que al menos en las dos primeras incubaciones del año se obtuvieron tasas de nacimientos compatibles con las de granjas de selección-multiplicación.

Estos resultados parecen indicar que la Tª de almacenamiento de los huevos durante 2004 era demasiado elevada para almacenamientos de hasta 16 días de duración, habiendo indicado otros autores (Nwagu y Alawa, 1995) que si el almacenamiento es inevitable (hasta 2 semanas) la temperatura de la cámara debería ser mantenida sobre 12,7°C.

Teniendo en cuenta que a nivel comercial la edad de eliminación de los reproductores está comprendida entre 64-66 semanas de edad (Galorfrance, 2007) para futuros trabajos habría que descartar utilizar los reproductores, por lo menos, a partir de las 65 semanas de edad. Además, mientras no se realice una valoración microscópica de los eyaculados y conociendo que la calidad inicial del semen de pintada es débil (en eyaculados frescos, 55-60% de espermatozoides vivos normales) para luego aumentar con la edad hasta que empieza a descender hasta acabar alrededor del 45% (Seigneurin y Blesbois, 2005), convendría aumentar el volumen de eyaculado por inseminación a medida que aumenta la edad de los sementales. Esto podría significar un factor de selección para la hembra de espermatozoides de mejor calidad.

Sin embargo, estos resultados son, de momento, suficientes para garantizar la reposición de los reproductores actuales y para asegurar la producción de pintadones para las necesidades de nuestro centro.

Tabla 1. Resultados obtenidos en las 9 incubaciones de huevos de pintadas realizadas durante 2004

Edad reproductores (semanas)	Nº huevos cargados	Fertilidad (%)	Incubabilidad (%)	Tasa de nacimientos (%)	Triaje nacimientos (%)
30	1227	97,89	45,06	44,66	10,04
34	1758	96,19	43,06	43,57	6,53
38	1915	98,98	44,19	41,83	5,87
43	1788	95,48	44,97	44,13	7,98
45	1558	-----	-----	45	3,67
47	1524	99,97	41,57	45,87	5,15
51	1641	-----	-----	42,17	3,32
56	1530	-----	-----	34,90	4,32
65	1247	-----	-----	19,41	4,55
Total	14.188	97,70	43,77	40,17	5,71

Tabla 2. Resultados obtenidos en las 9 incubaciones de huevos de pintadas realizadas durante 2005

Edad reproductores (semanas)	Nº huevos cargados	Fertilidad (%)	Incubabilidad (%)	Tasa de nacimientos (%)	Triaje nacimientos (%)
34	2056	97,90	70,78	67,56	1,01
38	1959	97,58	68,32	68,96	1,26
43	1026	95,87	56,03	58,58	1,66
46	1405	91,37	53,09	57,08	2,37
47	1133	-----	-----	59,84	2,80
52	1340	-----	-----	59,18	4,54
56	1190	90,30	59,73	52,35	2,09
60	1364	-----	-----	35,19	2,09
65	1467	-----	-----	27,27	3,75
Total	12.940	94,60	61,59	54,00	2,40

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a N. Martínez, F. Pérez, M. Senero y Fátima Pérez su participación en el desarrollo de estos trabajos. Este estudio formó parte de los proyectos 414-JUN y 547-JUN, financiados por la Junta de Extremadura y la Unión Europea (FEDER).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burrows W.H., Quinn J.P. (1935). Poultry Science 14: 251-254
- Cepero R. (2005). En: XLII Symposium Científico de Avicultura, pp. 11-42
- Del Moral J., Mejías A., Jiménez J., Cancho, M., García N. (1998). Selecc.avíc. 45: 263-272
- Del Moral J., Miguel-Lasobras E.M., Alvarez I.S., Muriel A., Pérez-Rojas F., Senero M. (2004). Bol. San. Veg. Plagas 30: 635-648
- Galorfrance (2007). Disponible en <http://www.galorfrance.com> [enero 2007]
- López M. M., García S., Tejerina D., Blanco T., Del Moral J. (2005). ITEA, v. Extra, nº 26, pp. 816-818
- Mauldin J.M. (2000). Jamesway, v. 1. EEUU.
- Muriel A. (2004). Comunicación personal. En: Congreso Intern. 550 Feria de San Miguel
- Muriel A. (2005a). Mundo ganadero, nº 179, pp.60-64
- Muriel A. (2005b). En : XLII Symposium Científico de avicultura, pp. 153-160
- Muriel A., Serrano A. (2006). Mundo ganadero, nº 190, pp.46-52
- Nwagu B.I., Alawa C.B.I. (1995). World's Poult. Sci. Journal 51 : 261-270
- Seigneurin F., Blesbois E. (2005). Sciences et Techniques avicoles, nº 50, pp. 4-8

ANÁLISIS DE LA FERTILIDAD Y DETERMINACIÓN DE LA MORTALIDAD EMBRIONARIA EN HUEVOS DE GALLINAS DE GUINEA

Muriel, A., Serrano, A.

Centro de Investigación La Orden-Valdesequera. Junta de Extremadura
06187-Guadajira (Badajoz)
angel.muriel@juntaextremadura.net

INTRODUCCIÓN

La práctica de abrir los huevos que no han eclosionado y que quedan como remanentes en las bandejas de las nacedoras tras el período de incubación es una herramienta muy útil para determinar si el fallo en el nacimiento se produjo a una edad determinada del embrión o bien a un fallo en la fertilidad o a otras causas que afectan a la calidad del huevo y a su viabilidad. A este procedimiento se le denomina embriodiagnóstico (Plano, 2005).

La fertilidad o infertilidad de los huevos se puede determinar mediante el análisis de huevos frescos, por miraje o al nacimiento. Cuando se valora en la sala de nacimientos a partir de los huevos abortados el dato que se obtiene no es la infertilidad verdadera sino la infertilidad verdadera más la mortalidad en el período de preincubación. Este hecho puede originar una sobreestimación de la infertilidad porque es difícil distinguir entre huevos infértiles y embriones que mueren al inicio de su desarrollo y más si los huevos no eclosionados son examinados tras 28 días de incubación. Esta observación ha sido descrita, al menos, en huevos de gallina (Fasenko *et al.*, 2001).

La mortalidad embrionaria es de etiología diversa y muy variada. Puede ser debida a causas genéticas o medioambientales o a la imposibilidad de la cáscara del huevo de realizar un adecuado intercambio de gases y de agua (Kuurman *et al.*, 2001). También puede deberse a procesos patológicos de etiología infecciosa, a la alimentación de las reproductoras, al transporte del huevo incubable o incluso al manejo en la propia sala de incubación (Martínez-Alesón, 2003). En las gallinas de Guinea o pintadas (*Numida meleagris*) se alcanzan porcentajes más elevados (14-20%) que en la gallina (*Gallus gallus*) (9-11%).

Aprovechando el calendario de incubaciones que desarrollamos en el período 2004-2005 realizamos un seguimiento de los huevos no eclosionados con el objetivo de analizar la mortalidad embrionaria observada para poder mejorar la incubabilidad de huevos de gallinas de Guinea.

MATERIAL Y MÉTODOS

En 15 incubaciones (8 en 2004 y 7 en 2005), para el cálculo de la fertilidad, una vez sacados los pollitos de las bandejas de nacimientos se apartó, al menos, una bandeja por incubación. Todos los huevos de esas bandejas fueron cascados. Para abrir los huevos se quitó la cáscara por el polo más redondo ya que en la mayoría de los casos el desarrollo embrionario se localiza en esa región. La fertilidad de los huevos incubados se identificó buscando signos de desarrollo embrionario y examinando el color de la yema y la consistencia del albumen según las pautas descritas por Mauldin (2000).

La fertilidad fue determinada utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Fertilidad (\%)} = 100 - ((\text{Huevos infértiles/tamaño de la muestra}) \times 100)$$

De acuerdo con Martínez-Alesón (1999), dividimos el desarrollo embrionario y, por consiguiente, la mortalidad embrionaria en cuatro períodos. En la gallina pintada, el primer período abarcaría los cinco primeros días del desarrollo embrionario, el segundo desde el día 6 hasta el día 12, el tercero del día 13 al 19-20 y el cuarto hasta el día 27-28 (Muriel, 2001). De todos los huevos con desarrollo se anotó el período en que se había producido su muerte. En el primer período hay que distinguir el huevo abortado del infértil; en el segundo,

el embrión presenta los ojos visibles, tiene forma de pollo pero le faltan las plumas; en el tercero sí presenta plumón y el saco vitelino está sin absorber; en el cuarto el pollo está totalmente formado, el saco vitelino sí ha sido absorbido y puede estar perforada la cámara de aire. Dentro del período 4 se distinguieron los que presentaban la cáscara del huevo picada (picados no nacidos) del resto.

Para valorar si la muestra tomada era representativa del comportamiento real de todos los huevos colocados en la incubadora se calculó el índice de muestreo aplicando la fórmula:

$$\text{Índice de muestreo} = \% \text{ nacimientos estimado} - \% \text{ nacimientos}$$

El porcentaje de nacimientos estimado se calculó restando a 100 el porcentaje de problemas reproductivos encontrados. Si el índice de muestreo obtenido es superior a 3 indica que la muestra no es representativa del comportamiento real del lote. El cálculo de este parámetro es necesario para interpretar correctamente los resultados obtenidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **tabla 1** se muestran los resultados, expresados en porcentaje, de 5 incubaciones para las que se determinó que la muestra estudiada era representativa del comportamiento real del lote. En primer lugar, destaca que el porcentaje de huevos infértiles era bajo, en lo que pudo influir que las hembras eran inseminadas 2 veces cada semana cuando está demostrado que con una inseminación es suficiente si el volumen de espermatozoides es correcto (Bakst y Brillard, 1995). En segundo lugar, se aprecia que la mortalidad embrionaria era elevada al inicio de la incubación (fase 1) y al final (fase 4 incluyendo los huevos picados), períodos que presentan una mayor mortalidad en todas las especies avícolas y que coinciden con el inicio de la transferencia de oxígeno desde el exterior del huevo hacia el embrión y el paso a la respiración aérea, respectivamente.

Una alta mortalidad temprana puede indicar un almacenamiento de los huevos demasiado prolongado o una temperatura de almacenamiento demasiado alta o manejos inadecuados durante la recogida de los huevos.

Sin embargo, en nuestro trabajo, también hay una elevada mortalidad en la fase 3 que pudiera deberse a alguna deficiencia nutricional, en vitaminas y/o minerales, en la dieta recibida por los reproductores.

Si comparamos estos resultados con los presentados en la **tabla 2**, en el año 2005 también conseguimos que el porcentaje de huevos infértiles fuera bajo. Como consecuencia de la reducción del número de días transcurridos desde la recogida de huevos hasta la carga de la incubadora, unido a la reducción de la temperatura programada para la cámara de conservación, se consiguió una reducción en la mortalidad embrionaria en los primeros días de la incubación. También fue menor la mortalidad observada en fase 3, lo que nos hace sospechar que la deficiencia nutricional que se podía intuir por los resultados obtenidos en 2004 se podría descartar pues la alimentación recibida por los reproductores fue idéntica en ambos años. Pudiera ser más factible que variaciones en las condiciones de incubación explicaran la mortalidad observada en esta fase.

Pero por segundo año consecutivo encontramos un número elevado de huevos picados aunque con embriones muertos que se suele asociar a un almacenamiento del huevo demasiado largo, a un enfriamiento de los huevos durante la transferencia y/o a una baja humedad, a una ventilación inadecuada o a una elevada temperatura de la nacedora.

Por tanto, como consecuencia de la disminución de la mortalidad embrionaria se ha producido un aumento de la incubabilidad de los huevos del año 2004 al 2005.

Reconociendo que todavía queda un margen de mejora para aproximarnos a valores del 86-88% que se obtienen en explotaciones de selección-multiplicación, no hay que olvidar que trabajamos en una nave de ambiente no controlado y que la sala de incubación no alcanza temperaturas $\geq 24^{\circ}\text{C}$ durante la época fría del año. Estos condicionantes pueden suponer un freno para alcanzar los valores mencionados previamente.

Tabla 1. Infertilidad y mortalidad embrionaria de huevos de gallinas de Guinea en 2004

Lote	Días de conservación de los huevos	Infértiles (%)	Embriones muertos (%)				
			Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Picados
104	15	2,11	27,79	1,21	10,57	2,42	11,18
204	15	3,81	16,89	0,54	16,89	1,91	16,89
304	15	1,02	16,37	0,51	27,11	1,02	9,72
504	15	4,52	29,94	0,56	11,30	1,13	6,78
704	14	2,92	27,49	3,51	14,04	0,58	4,09
	TOTAL	2,88	23,70	1,27	15,98	1,41	9,73

Tabla 2. Infertilidad y mortalidad embrionaria de huevos de gallinas de Guinea en 2005

Lote	Días de conservación de los huevos	Infértiles (%)	Embriones muertos (%)				
			Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Picados
205	12	2,10	10,24	0,52	5,51	0,79	10,24
305	12	2,42	6,66	1,21	6,66	1,81	12,72
505	6	4,13	11,57	2,48	5,79	0,83	19,83
605	14	8,63	17,26	1,49	9,52	0,89	8,33
1005	9	9,70	9,70	3,03	6,06	0,61	11,52
	TOTAL	5,40	11,09	1,75	6,71	0,99	12,53

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en los proyectos 414-JUN y 547-JUN, financiados por la Junta de Extremadura y la Unión Europea (FEDER).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakst M.R., Brillard J.P. (1995). Mating and fertility. En: World Animal Science. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (Holanda)
- Fasenko G.M., Robinson F.E., Whelan A.I., Kremeniuk K.M., Walker J.A. (2001). Prestorage incubation of long-term stored broiler breeder eggs: 1. Effects on hatchability. Poultry Science 80: 1406-1411
- Kuurman W.W., Bailey B.A., Koops W.J., Grossman M. (2001). Effect of hatch on the distribution for failure of an embryo to survive incubation. Poultry Science 80: 710-717
- Martínez-Alesón R. (1999). Embriodiagnóstico en avicultura. Selecciones avícolas 41: 267-270
- Martínez-Alesón R. (2003). Análisis de problemas de incubación. En: Reproducción e incubación en avicultura. Edita: Real Escuela de Avicultura. Arenys de mar (Barcelona).
- Mauldin J.M. (2000). Pautas para el análisis de huevos de incubar. Jamesway, v. 1. EEUU
- Muriel A. (2001). Resultados de la inseminación artificial de pintadas con semen fresco. Selecciones avícolas 43: 417-420
- Plano C.M. (2005). Embriodiagnóstico como herramienta de trabajo. Avicultura Profesional 23 (1): 18-21

RELACIÓN ENTRE EL PESO Y LA TASA DE OVULACIÓN EN CONEJO

Agea, I., Muelas, R., García, M.L., Argente, M.J.

División de Producción Animal. Departamento de Tecnología Agroalimentaria.
Universidad Miguel Hernández de Elche. Crta de Beniel 3,2. 03312 Orihuela. Alicante.
ivamarcial@gmail.com

INTRODUCCIÓN

En las especies múltiparas, el peso de la hembra parece que puede influir en la tasa de ovulación (García *et al.*, 1984, en conejo; Ruiz-Flores y Johnson, 2001, en cerdo; Lubritz *et al.*, 1991, en ratón). Sin embargo, un aumento del peso de la coneja parece aumentar las pérdidas embrionarias durante la gestación (Bayon *et al.*, 1986).

En este trabajo se trata de analizar la relación existente entre el peso de la coneja, que es un carácter fácil y barato de medir, con caracteres reproductivos que afectan a la rentabilidad de la explotación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se han analizado los datos de 374 conejas F2 procedentes del cruce recíproco de dos líneas seleccionadas divergentemente por capacidad uterina durante diez generaciones (Argente *et al.*, 1997). La capacidad uterina fue estimada como el tamaño de camada en hembras ovariectomizadas unilateralmente (Blasco *et al.*, 1994). 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. Estas instalaciones tenían ambiente controlado con un fotoperiodo constante de 16 h de luz. Las hembras fueron llevadas por primera vez a la monta a las 18 semanas de edad. No se realizaron adopciones y las camadas se destetaron a los 28 días. Las hembras podían tener hasta cuatro partos. Se realizó una laparoscopia a los 12 días de la segunda gestación para contabilizar la tasa de ovulación y el número de embriones implantados en todas las hembras.

Caracteres

Los caracteres analizados fueron: tasa de ovulación (TOT), embriones implantados (EIT), tamaño de camada al parto (NT), número de gazapos nacidos vivos (NV), supervivencia embrionaria ($SE=EIT/TOT$), supervivencia fetal ($SF=NT/EIT$), peso medio al nacimiento de los gazapos (PMN), peso de la hembra al destete con 28 días de edad (PD) y peso de la hembra a la laparoscopia (PL).

Análisis Estadísticos

Se realizó un análisis de componentes principales con el programa STATGRAPHICS (Manugistic, Inc., Rockville, MD) para analizar las relaciones entre TOT, SE, SF, NT, PL y PMN. Los coeficientes de correlación entre caracteres se estimaron mediante el procedimiento CORR del programa S.A.S. (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los análisis descriptivos de los caracteres analizados. En esta población, los caracteres que presentan una mayor variación son NT y NV, y los que menos PL, TOT y SE. Las medias para TOT, SE, SF, NT, NV, PMN, PD y PL muestran valores similares a los encontrados en otras líneas de conejos de formato mediano (Cifre *et al.*, 1996; Gómez *et al.*, 1999; García *et al.*, 2000).

En la Figura 1, se muestra el resultado del análisis de componentes principales. La primera componente principal explica el 34.85% de la variación, y la segunda componente principal explica el 24.10% de la misma. Entre las dos primeras componentes principales se

explica el 58.95% de la variación total. La primera componente muestra como el tamaño de camada al parto y la supervivencia fetal están relacionados positivamente entre sí pero negativamente con el peso medio individual al nacimiento. Estos caracteres explican la mayor parte de la variación asociada a los procesos biológicos que tienen lugar después de la implantación. La segunda componente muestra como la tasa de ovulación y el peso de la hembra a la laparoscopia forman un segundo grupo de caracteres relacionados negativamente con la supervivencia embrionaria. Estos caracteres explican la mayor parte de la variación asociada a los procesos biológicos que tienen lugar desde la liberación de los óvulos hasta la implantación de los embriones en el útero.

La Tabla 2 presenta las correlaciones entre los caracteres analizados. El peso al destete y a la laparoscopia muestran una correlación positiva con la tasa de ovulación (0.15 y 0.29, respectivamente). A su vez, un incremento de la tasa de ovulación parece ir acompañado de un aumento del tamaño de camada al parto (0.29). En un estudio comparativo en tres líneas de conejo, Viudes de Castro *et al.* (1995) encontraron una mayor tasa de ovulación en la línea de mayor peso. También Argente *et al.* (1999) han observado un incremento de la tasa de ovulación con el peso de la coneja y un aumento del número de nacidos totales al aumentar la tasa de ovulación. En este sentido, Quevedo *et al.* (2005) encontraron que un aumento de las reservas corporales estaba relacionado con un aumento de la prolificidad en conejo. La supervivencia embrionaria está relacionada negativamente con la tasa de ovulación y el peso de la hembra a la laparoscopia (-0.14 y -0.11, respectivamente). Este resultado indicaría que si la capacidad uterina de la coneja es excedida, un aumento de la tasa de ovulación llevará a un aumento de las pérdidas embrionarias. Un aumento de la tasa de ovulación reduce la supervivencia embrionaria pero aumenta globalmente el tamaño de camada, como lo indica la correlación positiva entre ellos (0.29).

Por otro lado, el tamaño de camada al parto parece estar estrechamente correlacionado con la supervivencia embrionaria (0.23) y la supervivencia fetal (0.74). Este resultado es lógico puesto que si tenemos un mayor número de embriones viables, mayor tamaño de camada estaríamos en disposición de conseguir. Sin embargo, un aumento del tamaño de camada al parto disminuye el peso al nacimiento de los gazapos (-0.48), un aumento del número de fetos en el útero provoca una mayor competencia entre ellos y que tengan un menor espacio físico disponible donde desarrollarse (Argente *et al.*, 2006). El peso de la hembra a la laparoscopia tiene una correlación de 0.31 con el peso de la hembra al destete, por lo que el peso de la hembra al destete parece un carácter a tener en cuenta en previsión del comportamiento reproductivo futuro de las hembras.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos CICYT AGL2001-3068-C03-02 y AGL2005-07624-C03-03.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., Santacreu, M.A., Climent, A., Bolet, G., Blasco, A. 1997. J. Anim. Sci. Vol 75: 2350-2354.
- Argente, M.J., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 1999. ITEA. Vol Extra 20 N°1: 279-281.
- Argente, M.J., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 2006. Liv. Sci. 102:83-91.
- Bayon, Y., Fuente, L.F., San Primitivo, F. 1986. Livest. Prod. Sci. Vol 14: 195-203.
- Blasco, A., Argente, M.J., Haley, C.S., Santacreu, M.A. 1994. J. Anim. Sci. Vol 72: 3066-3072.
- Cifre, J., Baselga, M., García-Ximénez, F., Vicente, J.S. 1996. 6th World Rabbit Congress. Toulouse.
- García, F., Baselga, M., Plá, M., Del Toro, J. 1984. 3rd World Rabbit Congress. Roma. Vol 2: 241-244.
- García, M.L., Baselga, M., Vicente, J.S., Lavara, R. 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia.
- Gómez, E.A., Rafel, O., Ramón, J. 1999. 8èmes Journées de la Recherche Cunicole. Paris. 119-122.
- Lubritz, D.L., Eisen, E.J., Robison, O. W. 1991. J. Anim. Sci. Vol 69: 4299-4305.

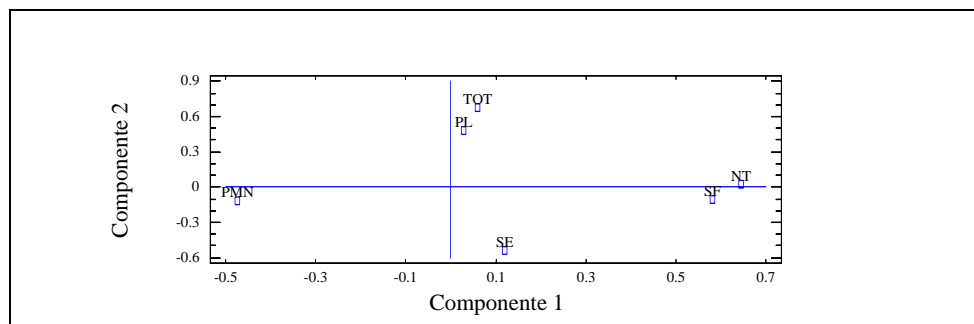
- Quevedo, F., Cervera, C., Blas, E., Baselga, M., Costa, C., Pascual, J.J. 2005. J. Anim. Sci. Vol 82 N°5: 751-762.
- Ruíz-Flores, A., Johnson, R.K. 2001. J. Anim. Sci. Vol 79: 2286-2297.
- Viudes de Castro, M.P., García-Ximénez, F., Vicente, J.S. 1995. Investigación Agraria. Vol 10: 145-151.

Tabla 1. Análisis descriptivos de los caracteres analizados.

Carácter	N	Media	Máximo	Mínimo	d.s.	c.v. (%)
TOT	374	14.76	25.00	4	2.85	19
SE	374	0.85	1.00	0.29	0.14	16
SF	374	0.70	1.00	0.07	0.23	32
NT	1928	8.28	18.00	1	3.22	39
NV	1928	7.37	18.00	0	3.52	48
PMN (g)	979	62	161	34	14	22
PD (g)	374	574	1190	320	117	21
PL (g)	374	4191	5755	3240	413	10

TOT: tasa de ovulación. SE: supervivencia embrionaria. SF: supervivencia fetal. NT: número de gazapos al parto. NV: número de gazapos nacidos vivos. PMN: peso medio al nacimiento de los gazapos. PD: peso de la hembra al destete (28 días edad). PL: peso de la hembra a la laparoscopia. N: número de datos. d.s.: desviación estándar. c.v.: coeficiente de variación.

Figura 1. Proyección de las variables TOT, SE, SF, NT, PMN y PL en el plano definido por las dos primeras componentes principales.



Para las abreviaturas ver la Tabla 1.

Tabla 2. Coeficientes de correlación fenotípicos entre los caracteres analizados.

	TOT	SE	SF	NT	NV	PMN	PD
SE	-0.14*						
SF	-0.12*	-0.13*					
NT	0.29*	0.23*	0.74*				
NV	0.12*	0.15*	0.67*	0.83*			
PMN	-0.13**	-0.16	-0.34*	-0.48*	-0.43*		
PD	0.15*	-0.11*	-0.07	0.06*	0.03	-0.08*	
PL	0.29*	-0.11*	0.01	0.07	-0.00	-0.09	0.31*

*Nivel de significación al 5%. ** Nivel de significación al 10%. Para las abreviaturas ver la Tabla 1.

PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y NIVELES PLASMÁTICOS DE LEPTINA EN CONEJAS SOMETIDAS A DIFERENTES PAUTAS DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA RECRÍA

Nicodemus, N.¹, Fernández, B.¹, Millán, P.², Pereda, N.¹, Lorenzo, P.L.² Rebollar, P.G.¹

¹Departamento de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid

²Departamento de Fisiología (Fisiología Animal). Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Ciudad Universitaria 28040 Madrid. E-mail: pilar.grebollar@upm.es

INTRODUCCION

Durante el periodo de recría, las conejas suelen ser alimentadas de forma restringida para evitar su engrasamiento, la alta mortalidad perinatal, la supresión del consumo voluntario al inicio de la lactación y la disminución de su vida útil (Partridge *et al.*, 1986). Sin embargo, la restricción les provoca un retraso en la pubertad, y además afrontan su primera gestación y posterior lactación con un nivel de engrasamiento deficiente. Para evitarlo se pueden administrar *ad libitum* piensos con un elevado porcentaje de fibra, ya que a pesar de su bajo contenido en energía digestible, pueden mejorar la capacidad de ingestión de las conejas en su primera lactación (Nizza *et al.*, 1997; Pascual *et al.*, 2002).

El efecto negativo de la restricción calórica sobre los parámetros reproductivos existe, y se ha demostrado, determinando la secreción pulsátil de LH en conejas sometidas a ayuno (Brecchia *et al.*, 2006). Esta relación entre nutrición y reproducción se establece mediante ciertas señales endocrinas que reflejan el estado nutricional de la hembra (Boiti, 2004). Entre ellas, la leptina, secretada fundamentalmente en el tejido adiposo podría ser considerada como una de las más importantes. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles plasmáticos de leptina en conejas sometidas a diferentes pautas de alimentación durante el periodo de recría y sus efectos sobre algunos parámetros productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han empleado 30 conejas que a las 11 semanas de edad y hasta su primer parto se distribuyeron en tres grupos experimentales: el grupo AL y el grupo R se alimentaron con un pienso comercial (Cunimax A, Cargill España) *ad libitum* y de forma restringida (150 g/día), respectivamente, que contenía un 36% de FND/MS. Un tercer grupo (F) se alimentó *ad libitum* con un pienso experimental (Cunimax F, Cargill España), con un 50% de FND/MS, elaborado con granilla desengrasada de uva que se caracteriza por ser una fuente de fibra lignificada (Nicodemus *et al.*, 2007). Después del primer parto y durante toda la lactación, todas las conejas se alimentaron con el pienso comercial *ad libitum*. La composición en ingredientes y la composición química de dichos piensos se detallan en las Tablas 1 y 2, respectivamente. El análisis de la materia seca (MS) (procedimiento 934.01) y de la proteína bruta (PB) (procedimiento 967.05) de los piensos y las heces recogidas en 12 conejas de 15 semanas de edad por pienso experimental y durante dos semanas, se determinó siguiendo los procedimientos descritos por la AOAC (2000). El contenido en FND, FAD y LAD se determinó secuencialmente utilizando el sistema filter bag (Ankom Technology, New York) de acuerdo con Mertens (2002), (procedimiento 973.187) y Van Soest *et al.* (1991). La energía bruta (EB) se analizó con una bomba calorimétrica adiabática.

El grupo AL se inseminó por primera vez a las 16 semanas de edad y el resto a las 17 semanas. La segunda inseminación se realizó el día 11 post-parto. Se utilizaron dosis seminales de 0,5 ml con una concentración no inferior a 20 millones de espermatozoides y se indujo la ovulación con 20 µg de GnRH (Inducel GnRH, Lab. Ovejero, León). Después del parto las camadas de conejas pertenecientes al mismo grupo fueron equilibradas a 8-10 gazapos y se contabilizaron las bajas al nacimiento y durante la lactación.

El peso de la coneja, el consumo de pienso y la concentración de leptina sérica (por punción de la arteria central de la oreja) se determinaron a las 11, 16 y 17 semanas de edad, 24 horas antes del parto, el día de la segunda inseminación (11 post-parto) y el día 21 de lactación (pico de producción).

Tabla 1. Composición en Ingredientes (%) de los piensos Control (Cunimax A) y Fibroso (Cunimax F).

	Control	F
Heno de alfalfa	14	56,9
Salvado de trigo	15	16,4
Paja tratada	- ³	2,8
Granilla de uva desengrasada	- ³	19,8
Torta de girasol 30%	16	2,8
Lisina – L	- ³	0,06
Alimet/Rhodimet	- ³	0,045
Treonina – L	- ³	0,067
Carbonato cálcico	- ³	0,326
Cloruro Sódico	- ³	0,3
Corrector ¹	- ³	0,4
Robenidina ²	- ³	0,09

Tabla 2. Composición química (%MS) de los piensos Control (Cunimax A) y Fibroso (Cunimax F).

	Control	F
Materia Seca	92,34	94,11
Cenizas	7,89	9,49
Energía Bruta, MJ/Kg	18,5	18,5
Proteína Bruta	18,82	18,50
FND	37,92	50,50
FAD	13,85	19,30
LAD	5,24	9,34

¹Composición vitamínico y mineral (%): Mn, 1,34; Zn, 4; I, 0,067; Fe, 2,4; Cu, 0,8; Co, 0,035; Se, 0,008; riboflavina, 0,21; calcio pantoténico, 0,73; ácido nicotínico, 2,76; menadiona, 0,08; α -tocoferol, 2,2; tiamina, 0,067; piridoxina, 0,08; biotina, 0,005; ácido fólico, 0,05; cianocobalamina, 8 mg/kg; vitamina A, 6.700.000 IU/kg; vitamina D₃ 940.000 IU/kg.

² Robenidina 6,6% de ingredientes activos.

³ Datos no aportados por el fabricante.

Todas las muestras sanguíneas se tomaron entre las 9:00 y las 10:00 a.m., para evitar las posibles variaciones debidas al ritmo circadiano de secreción. La determinación cuantitativa de la leptina se realizó mediante RIA, utilizando un kit comercial (Multi-species Leptin RIA, Linco Research). El coeficiente de variación intraensayo e interensayo fue del 3,1 % y del 7,3 %, respectivamente. El límite de detección fue de 0,1 ng/mL HE (Human Equivalent) tras ajustar la curva estándar para los valores de esta especie. Para determinar el efecto de los tratamientos sobre la evolución de los parámetros séricos se realizó un análisis estadístico de medidas repetidas utilizando el procedimiento Mixed del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 1999-2001). Los efectos fijos fueron los distintos piensos, el tiempo y sus interacciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

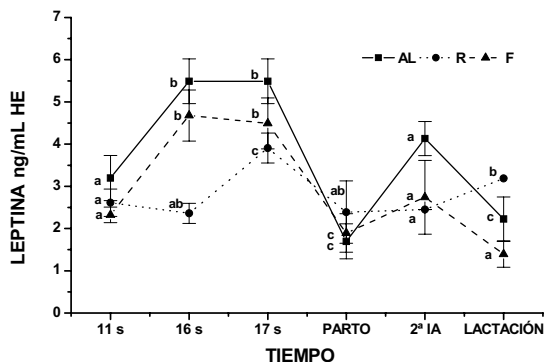
El coeficiente de digestibilidad de la MS, de la PB y de la E del pienso fibroso disminuyeron con respecto al comercial en torno a un 10%, un 6% y un 12% ($P < 0.0001$), respectivamente. Como consecuencia, se observó un menor contenido en energía digestible (ED: 9,38 vs. 11,6 MJ/Kg) y en proteína digestible (PD: 12,3 vs. 13,6 g/Kg MS) del pienso fibroso con respecto al pienso comercial, debido a que cierta proporción de proteína queda ligada a la fibra. Esto desencadenó que las conejas del grupo F consumieran diariamente mayor cantidad de alimento que las AL y las R hasta conseguir su primera inseminación fértil (223, 195 y 144 g/d respectivamente; $P < 0.0001$), pero el consumo de ED y PD fue similar al de las del grupo AL y más elevado que las del grupo R (2,09, 1,97 y 1,54 g/d; $P < 0,003$ y 24,3, 25,9 y 17,9 g/d; $P < 0,0003$, respectivamente). También se observó que durante la primera gestación las conejas del grupo F tendieron a consumir cantidades mayores de pienso que las del grupo R y similares a las del grupo AL (206, 169 y 174 g/d, respectivamente; $P < 0.15$). Sin embargo, durante la primera lactación no se observaron diferencias significativas en el consumo de pienso entre grupos, que fue en torno a los 335 g/d.

Las conejas iniciaron el periodo experimental con un peso medio de 2.418 g y quedaron gestantes con un peso medio de 3.575 g. Este peso concuerda con el recomendado para inseminar por primera vez a una coneja nulpápara y que se encuentra en torno al 80% del peso adulto. Una vez inseminadas, la fertilidad obtenida por primera vez fue inferior en las conejas que habían estado restringidas (AL: 100%, F: 95% y R: 72,6%; $P < 0.02$) y en la

segunda, tendió a ser inferior en las alimentadas *ad libitum* (AL: 50%, F: 70% y R: 59,1%, $P=0.09$). Debido posiblemente a que el número partos por grupo no fue muy elevado, no se observaron diferencias en la prolificidad, obteniéndose una media de nacidos vivos, nacidos muertos y destetados de 7,2, 1,25 y 7,1 gazapos. Tampoco se observaron diferencias en la mortalidad al nacimiento, ni entre nacimiento y destete, que fueron de media un 12,4 y un 16,6%, respectivamente.

Las conejas del grupo R presentaron concentraciones medias de leptina ligeramente más bajas que las del grupo AL, mientras que las alimentadas con el pienso fibroso tuvieron concentraciones intermedias (2,85, 3,60 y 2,95 ng/ml; respectivamente; $P=0.07$). La leptina actúa como una señal nutricional que controla las sensaciones de saciedad y el comportamiento alimenticio de las hembras, así como las pautas de secreción de gonadotropinas regulando el inicio de la pubertad (Boiti, 2004). Tal y como se observa en la figura 1, los niveles séricos de leptina son bajos a la edad de 11 semanas, ya que las conejas a esta edad se encuentran en una etapa prepuberal. A las 16 semanas, edad considerada en conejas como puberal, las que estuvieron alimentadas *ad libitum* o con el pienso fibroso presentaron concentraciones más altas de leptina que las que estuvieron restringidas, siendo también más fértiles. Las restringidas, sin embargo, hasta las 17 semanas de vida no alcanzaron un nivel de engrasamiento suficiente que les permitiera secretar cantidades de leptina similares a los de los grupos AL y F a las 16 semanas de edad y, a pesar de todo, su fertilidad fue más baja. En el momento del parto se observó un significativo descenso de la leptinemia en todos los grupos, indicando el claro gasto energético sufrido por las hembras gestantes a término (Houseknecht y Spurlock, 2003).

A pesar de que después del parto todas las conejas se alimentaron *ad libitum* con el pienso comercial, los niveles de leptina en la segunda inseminación fueron inferiores a los de la primera, y, corresponden con tasas de fertilidad más bajas en todos los grupos. En el



pico de lactación la leptina tiende a disminuir, excepto en el grupo R, aunque este resultado no sería del todo definitivo dado el escaso número de animales que llegaron a este punto. Nuestros resultados muestran que los niveles plasmáticos de leptina se podrían correlacionar con las reservas energéticas de las conejas nulíparas y que son señales endocrinas que indican que el sistema reproductor podría estar preparado para iniciar su actividad fisiológica.

Figura 1. Leptina plasmática en conejas a las 11, 16 (1ª inseminación de AL: *ad libitum*) y 17 semanas de edad (1ª inseminación de F: fibroso y R: restringidas), el día del parto, el día de la segunda inseminación y el día 21 de lactación. Las letras expresan diferencias entre periodos dentro del mismo tratamiento ($P<0.0001$).

AGRADECIMIENTOS: Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (AGL- 2005-0196) y agradecemos a Manuel Marco (Cargill España) por su ayuda y buena predisposición a la colaboración con el grupo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC 2000. Association of Official Analytical Chemists. (17 th edition), Gaithersburg MD. • Boiti C. 2004. 7th World International Rabbit Congress. Puebla, México, 186-206. •Brecchia G., Bonanno A., Galeati G., Federici C., Maranesi M., Gobetti A., Gerani M., Boiti C. 2006. Domest. Anim. Endocrinol. 31, 105-122. •Houseknecht K.L. and Spurlock M. 2003. Nutrition Research Reviews, 16: 83-96. •Mertens 2002 J. Assoc. Off. Assoc. Chem. Int. 85, 1217-1240. •Nicodemus N., García J., Carabaño R., De Blas J.C. 2007. Journal of Animal Science, 85: 181-187. •Nizza A.; Di Meo C.; Esposito L. 1997. World Rabbit Science 5: 10 –110. •Partridge G.G., Daniels Y., Fordyce R.A. 1986. Journal Agriculture Science Cambridge, 107: 697-708. •Pascual J.J., Cervera C., Fernández-Carmona, J. 2002. World Rabbit Science 10: 7–13. •SAS (1999-2001). SAS 7. STAT User's Guide (Release 8.2). SAS Inst. INC., Cary, NC • Van Soest, P. J. (1991). Cornell Univ. Press, Ithaca, N.Y. 476.

FACTORES QUE AFECTAN A LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA DURANTE EL PERIODO FETAL TEMPRANO EN GANADO VACUNO LECHERO

Bech-Sàbat, G.^{1*}, García-Ispierto, I.², Yániz, J.L.³, López-Gatius, F.¹

¹Departamento de Producción Animal, Universitat de Lleida, ETSEA, Av. Alcalde Rovira Roure, 177, 25198 Lleida

²Departamento de Sanidad y Anatomía Animal, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

³Departamento de Producción Animal, Universidad de Zaragoza, Escuela Politécnica Superior de Huesca, 22071 Huesca

*Correo electrónico: gbech@prodan.udl.es

INTRODUCCIÓN

Tras la fecundación y desarrollo embrionario temprano, el éxito del progreso de la gestación incluye delicados mecanismos, como la implantación, la modulación de la función ovárica (reconocimiento materno de la gestación), la formación de la placenta y el desarrollo de la circulación del embrión/feto y placenta para permitir un eficaz intercambio metabólico con la madre. Todos estos procesos ocurren entre los días 20 y 60 de gestación y están dirigidos por una serie de factores endocrinos e inmunológicos que forman una compleja red bioquímica que permite un diálogo entre la madre y el embrión (Wolf *et al.*, 2003). Un elemento clave es la progesterona, necesaria para crear el ambiente uterino adecuado para que se desarrolle y mantenga la gestación.

El ganado vacuno lechero ha sufrido un profundo proceso de intensificación durante las últimas décadas. La combinación de un mejor manejo, nutrición más ajustada a las necesidades de producción y una intensa selección genética han llevado a un importante aumento en la producción de leche. Sin embargo, este aumento ha ido asociado a un descenso en la eficiencia reproductiva (Royal *et al.*, 2000; Lucy, 2001; López-Gatius, 2003). Los principales puntos de atención suelen ser los desórdenes reproductivos durante el periodo posparto, el fracaso en la detección correcta del estro y la baja fertilidad. Pero no menos importante es que una vez la gestación se haya conseguido, ésta se mantenga. Precisamente, simultáneo al incremento de producción de leche se ha registrado un incremento de la pérdida de gestación, por factores ajenos a problemas infecciosos, durante el primer trimestre de la misma (Forar *et al.*, 1995; Santos *et al.*, 2004). La pérdida de la gestación es probablemente la mayor fuente de pérdida económica para los productores de leche y un factor determinante para la permanencia o no de la vaca en la explotación. En nuestra zona de estudio se han desarrollado diversos trabajos identificando factores de riesgo de carácter no infeccioso que afectan a la pérdida de gestación (López-Gatius *et al.*, 2002,2004a; García-Ispierto *et al.*, 2006)

Una de las consecuencias de la alta producción es un mayor metabolismo ligado a una mayor ingesta de comida, proceso que afecta negativamente a los niveles plasmáticos de esteroides, como la progesterona (Sangsritavong *et al.*, 2002), afectando, lógicamente, a la gestación. Considerando el periodo fetal temprano de la gestación, entre los 42 y 90 días de gestación, en un estudio previo se constató que la suplementación con progesterona durante dicho periodo reducía las pérdidas de gestación (López-Gatius *et al.*, 2004b). Además la presencia de un cuerpo lúteo adicional se identificó como un factor preventivo para la pérdida de gestación durante ese periodo (López-Gatius *et al.*, 2002). Por tanto, parece que una de las causas del aumento de pérdidas durante el periodo fetal temprano en vacas de leche de alta producción puede ser la concentración subóptima de progesterona. El objetivo de este estudio fue analizar los factores que afectan a la concentración de progesterona en el inicio del periodo fetal temprano (alrededor del día 42).

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en dos granjas comerciales de vacas de leche de la zona de Lérida, de aproximadamente 210 y 510 animales, durante 23 meses (Mayo 2004-Marzo 2006). La producción media anual durante el periodo de estudio, con tres ordeños al día, fue de 11.250 litros/vaca. El periodo de partos estaba distribuido durante todo el año. Los animales estaban libres de tuberculosis y brucelosis. Solo se incluyeron animales libres de patologías reproductivas detectables y se realizó inseminación artificial.

La gestación fue diagnosticada por ecografía vía rectal entre los días 35-42. Se escaneó cada ovario para la identificación de estructuras luteales. Todos los diagnósticos de gestación fueron realizados por el mismo técnico. Las muestras de sangre se extrajeron de la vena coccígea justo antes del diagnóstico de gestación. Se centrifugaron antes de 30 min de su extracción y el plasma se congeló a -20°C hasta su análisis. Se utilizó la técnica de radioinmunoensayo (RIA) para la detección de las concentraciones de progesterona.

Se realizó regresión logística mediante SPSS versión 14.0 utilizando el nivel de progesterona a diagnóstico de gestación ($>10\text{ng/ml}$ como alto, $\leq 10\text{ng/ml}$ como bajo) como variable dependiente y el rebaño, número de lactación, estación a diagnóstico de gestación (periodo cálido, de mayo a septiembre, vs. periodo frío, de octubre a abril), producción de leche a diagnóstico de gestación y cuerpo lúteo doble como factores. Los resultados están expresados en media \pm desviación estándar y rangos entre paréntesis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La población estudio final estuvo constituida por 188 animales gestantes, 47 y 141 de las granjas 1 y 2, respectivamente. El número de lactación media fue $2,32 \pm 1,45$ (1-8). La producción de leche media el día del diagnóstico de gestación fue de $40,7 \pm 8,1$ (20-65) litros. Se registraron 52 (27,7%) gestaciones con dos cuerpos lúteos. El nivel de progesterona medio fue de $7,69 \pm 2,94$ (2,23-19,82) ng/ml lo que suponen valores ligeramente inferiores a otros previamente descritos (> 12 ng/ml) (Humblot et al., 1988), probablemente debido a la alta producción (Sangsritavong y col., 2002). La tabla 1 muestra los factores que afectaron a la concentración de progesterona indicando el "Odds ratio" (riesgo relativo).

Tabla 1. "Odds ratio" de las variables incluidas en el modelo final de regresión logística para los niveles de progesterona

Factor	Clase	n	"Odds Ratio"	95% Intervalo de confianza	P
Producción de leche	Continua	188	0,945	0,897-0,994	0.030
Cuerpo lúteo múltiple	0	50/136	0,430	0,198-0,933	0.033
	1	28/52			

Likelihood ratio test = 174.07; 70df, $P=0.0001$

Prueba de Hosmer y Lemeshow = 7.22; 8 df, $P = 0.512$.

Evidentemente son muchos los factores que afectan a los niveles plasmáticos de progesterona. Pero en las condiciones de nuestro estudio, se identificaron dos factores que afectaron a dichos niveles, que son la presencia de doble cuerpo lúteo y la producción de leche. El "odds ratio" nos indica, en este caso, el factor de asociación con niveles altos de progesterona. Por tanto, según nuestro modelo, por cada unidad (litros) más de producción

lechera se reduce la probabilidad de tener niveles plasmáticos altos de progesterona en un factor de 0,945. Por otro lado, la presencia de dos cuerpos lúteos implica una probabilidad 2,3 (1/0,430) veces superior de tener niveles altos de progesterona cuando se compara con las gestaciones con un solo cuerpo lúteo. Los demás factores analizados no entraron en el modelo. Según nuestro conocimiento es la primera vez que se relacionan factores que afectan a la concentración plasmática de progesterona durante el periodo fetal temprano en vacas de alta producción.

Dada la importancia de la progesterona en el mantenimiento de la gestación y el incremento de la incidencia de la pérdida fetal temprana, la identificación de estos factores nos encamina a futuras investigaciones para poder diseñar estrategias para mantener los niveles de progesterona en condiciones suficientes. En conclusión, debe tenerse en cuenta que las vacas con alta producción durante el periodo fetal temprano tendrán más riesgo de tener niveles subóptimos de progesterona y que estrategias encaminadas a la formación de cuerpos lúteos adicionales pueden ayudar a incrementar los niveles plasmáticos de progesterona.

G. Bech-Sabat y I. García-Ispierto han recibido financiación de las becas FPU del Ministerio de Educación y Ciencia, AP-2005-5378 y AP-2004-4279, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Forar AL, Gay JM, Hancock DD. The frequency of endemic fetal loss in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 1995; 43:989-1000
- García-Ispierto I, López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Nogareda C, López-Béjar M, de Rensis F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology* 2006; 65:799-807
- Humblot P, Camous S, Martal J, Charlery J, Jeanguyot N, Thibier M, Sasser RG. Pregnancy-specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J Reprod Fertil* 1988; 83:215-23
- López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Rutllant J, López-Béjar, M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology* 2002; 57:1251-61
- López-Gatius, F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 2003; 60:89-99
- López-Gatius F, Santolaria P, Yaniz, JL, Garbayo, JM, Hunter, RHF. Timing of early foetal loss for single and twin pregnancies in dairy cattle. *Reprod Dom Anim* 2004a; 39:86-93
- López-Gatius F, Santolaria P, Yaniz JL, Hunter RHF. Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology* 2004b; 62:118-25
- Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where it will end? *J Dairy Sci* 2001; 84:1277-93
- Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woollians JA, Lamming GE. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim Sci* 2000; 70:487-501
- Sangsrivong S, Combs DK, Sartoru R, Armentano LE, Wiltbank MC. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002; 85:2831-42
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvao KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 2004; 82-83:513-35
- Wolf E, Arnold GJ, Bauersachs S, Beier HM, Blum HM, Einspanier R, Frölich T, Herrler A, Hiendleder S, Kölle S, Prella K, Reichenbach H-D, Stojkovic M, Wenigerkind H, Sinowatz F. Embryo-maternal communication in bovine – Strategies for deciphering a complex cross-talk. *Reprod Dom Anim* 2003;38:276-89

USO DE SEMILLA DE LINO EXTRUSIONADA EN VACUNO LECHERO: RESULTADOS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS

Fuentes, M.C.¹, Calsamiglia, S.¹, Sánchez, C.², González, A.³, Santos, J.E.⁴, Newbold, J.R.⁵, Fontecha, J.⁶, Rodríguez-Alcalá, L.M.⁶

¹Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España; ²Tauste Ganadera, Zaragoza, España; ³Nutral, SA, Madrid, España; ⁴University of California, Davis, CA; ⁵PROVIMI, Bruselas, Bélgica; ⁶CSIC, Madrid, España

INTRODUCCIÓN

El aumento en la producción de leche de las últimas décadas se ha acompañado de una notable reducción de la fertilidad (Butler, 1998). Parte de esta bajada de fertilidad puede atribuirse a las pérdidas embrionarias (Moore y Thatcher, 2006). Aproximadamente en el día 17 de estro e inseminación, el interferón- τ (IFN- τ) producido por el embrión informa del estado de gestación al útero, inhibiendo la secreción pulsátil de PGF_{2 α} del endometrio, evitando la regresión del cuerpo lúteo y manteniendo la preñez. Parte de las pérdidas embrionarias tempranas que las vacas experimentan han sido atribuidas a embriones poco desarrollados que producen cantidades insuficientes de IFN- τ (Thatcher *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). El ácido linoleico (C_{18:2 n6}) se convierte a ácido araquidónico (C_{20:4 n6}) que es el precursor de las prostaglandinas de la serie 2, como la PGF_{2 α} , con actividad luteolítica en el cuerpo lúteo bovino.

Sin embargo, los mismos enzimas elongasas y desaturasas también convierten el ácido linolénico (C_{18:3 n3}) a ácido eicosapentanoico (C_{20:5 n3}), precursor de las prostaglandinas de la serie 3, como la PGF_{3 α} (Abayasekara y Wathes, 1999), con reducida actividad biológica. La competición entre los precursores n-3 y n-6 por las enzimas elongasas y desaturasas implica que aumentando el aporte de ácidos grasos (AG) n-3 en la dieta de vacas lecheras se reducirá la producción de prostaglandinas de la serie 2 en favor de las de la serie 3. Por tanto, cambiando el perfil de AG de las dietas de vacuno lechero se podría reducir la secreción endometrial de PGF_{2 α} ayudando a los embriones que no producen suficiente IFN- τ a mantener la preñez, reduciendo de esta manera la mortalidad embrionaria y afectando positivamente la fertilidad en vacuno lechero. Por tanto, los objetivos de este experimento fueron estudiar los efectos de la semilla de lino extrusionada sobre la producción y la reproducción en condiciones comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 356 vacas Holstein multíparas al inicio de la lactación (25 \pm 3 días en lactación) que fueron asignadas a una de las dos dietas experimentales en un diseño de bloques al azar. Los animales estuvieron bajo control experimental entre las semanas 4 y 20 de lactación. Durante el periodo anterior al inicio del experimento (0 a 25 \pm 3 días en lactación) todas las vacas recibieron la misma dieta y estuvieron alojadas en el mismo parque. Pasado este tiempo, los animales se alojaron en dos parques aleatoriamente y recibieron una de las dos dietas experimentales: control (CTR) o lino (LIN). Ambas dietas fueron similares en composición excepto en el suplemento proteico, siendo el de la dieta CTR rico en semilla de soja extrusionada y jabones cálcicos de AG mientras que el suplemento de la dieta LIN estuvo basado en semilla de lino extrusionada. Los datos de producción (ingestión por grupo, producción y composición de leche) y de rendimiento reproductivo se obtuvieron de todas las vacas y 40 animales fueron seleccionados para estudiar la ingestión individual y las concentraciones sanguíneas de hormonas reproductivas. Las vacas se alojaron en dos patios de 200 animales cada uno que eran idénticos en diseño, orientación y localización. Las vacas se ordeñaron tres veces al día.

Se tomaron datos de producción de leche cada 15 días de los tres ordeños usando el sistema Afimilk[®] (S.A.E Afikim, Kibbutz Afikim, Israel). La composición de leche se analizó cada 15 días en un laboratorio certificado por espectrofotometría usando un Milk-O-Scan (Milk-O-Scan 303 AB, Foss Electric, Hillerod, Denmark). Las 40 vacas seleccionadas fueron sincronizadas con una inyección i.m. de GnRH (Gonadorelina 0,1 mg/ml, Fertagyl[®], Intervet

Internacional B. V., Bowmeer, Holanda) el día 30 postparto, seguida de una segunda inyección i.m. de PGF_{2α} (Estrumate[®], Schering-Plough Animal Health, Madrid, España) siete días después y dos días después las vacas recibieron una segunda inyección de GnRH. Se asumió que éste fue el día 0 de un nuevo ciclo. Las vacas que ciclaron correctamente no fueron inseminadas en este ciclo porque en el día 15 del ciclo recibieron una inyección i.m. de 2 mg de estradiol benzoato (ABCR GMBH & Co. KG, Alemania) al menos tres horas antes de una inyección con 100 UI i.v. de oxitocina (Oxiton 1000 UI, Laboratorios Ovejero, SA[®], León, España) para estimular la producción uterina de PGF_{2α}. Se tomaron muestras de sangre a los -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 min post oxitocina para analizar la concentración de 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2α} (PGFM), metabolito principal de la PGF_{2α}.

Tabla 1. Composición química y en ácidos grasos de las dietas experimentales.

	CTR ²	LIN	Semilla de lino
<i>Composición química (% MS)¹</i>			
MS	58,4	58,6	92,3
FND	28,2	27,2	-
FAD	16,2	15,5	-
CNF	40,7	41,1	-
Proteína bruta	17,8	18,0	17,8
EE	5,8	6,3	38,2
Cenizas	7,5	7,4	3,6
<i>Ácidos grasos (% de los AG totales)</i>			
C _{16:0}	25,1	18,9	7,6
C _{18:0}	3,5	4,2	5,2
C _{18:1 cis9}	20,8	20,8	20,0
C _{18:2 c9,c12}	42,0	34,5	14,5
C _{18:3 c9,c12,c15}	5,1	17,6	51,3

¹ MS: materia seca.

² CTR: dieta control; LIN: dieta lino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo diferencias en ingestión de MS ni en producción de leche entre tratamientos (Tabla 2). En cambio, la producción de leche corregida por grasa fue menor en LIN que en CTR ya que tanto el porcentaje como la producción de grasa fue menor en el grupo LIN comparado con el CTR. Aunque el porcentaje de grasa fue bajo en ambos tratamientos debido probablemente a un nivel bajo de FND y FAD en la dieta, las diferencias entre ambos grupos en el porcentaje de grasa en leche pudieron ser debidas a diferencias entre las fuentes de grasa. El porcentaje de proteína fue mayor en las vacas LIN comparadas con las CTR, probablemente debido a una menor producción numérica en este grupo LIN comparado con el CTR.

La concentración de PGFM, expresada como el valor medio para todos los tiempos de muestreo fue numéricamente menor ($P = 0,16$) para las vacas LIN ($n = 13$, 105,7 pg/ml) comparado con las CTR ($n = 16$, 120,0 pg/ml). Se observó una tendencia a una interacción entre tratamiento y tiempo para la concentración plasmática de PGFM, donde las concentraciones de PGFM tendieron a ser mayores a los 0 y 45 min después de la inyección de oxitocina (Figura 1) para las vacas alimentadas con la dieta CTR comparadas con las alimentadas con la dieta LIN, y no hubo diferencias entre tratamientos para el resto de horas de muestreo. A pesar de los cambios numéricos observados en la secreción de PGFM, no se observaron diferencias en el porcentaje de detección de estro, en la tasa de concepción, en el número de inseminaciones artificiales ni en el intervalo parto inseminación fértil.

CONCLUSIONES

La concentración basal y la secreción uterina de PGFM en respuesta a una inyección de oxitocina tendieron a reducirse en las vacas suplementadas con semilla de lino extrusionada, apoyando la hipótesis de que el incremento de los aportes de AG n-3 en la dieta puede reducir la síntesis uterina de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Aunque se esperaba que la reducción en $\text{PGF}_{2\alpha}$ mejorara la tasa de concepción en las vacas LIN, el rendimiento reproductivo no se modificó, quizás debido al alto nivel de producción de estas vacas comparado con el de experimentos anteriores.

Tabla 2. Ingestión de materia seca, producción y composición de la leche.

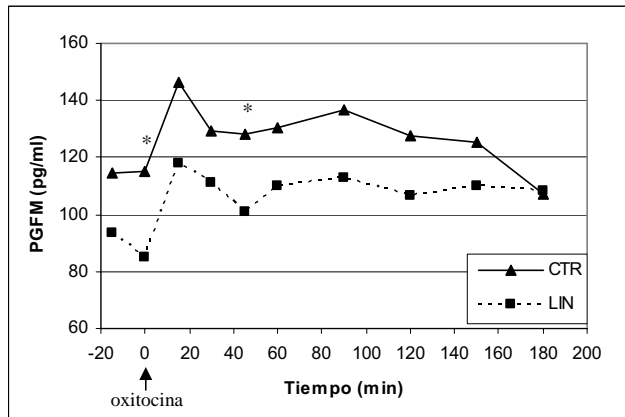
	CTR	LIN	SEM
IMS ¹ D40, kg/d	23,6	22,4	1,34
IMS D90, kg/d	24,6	23,9	1,90
Producción de leche, kg/d	45,6	44,5	0,68
Producción de leche al 4% de grasa, kg/d	37,7 ^a	35,4 ^b	0,64
Grasa, %	2,86 ^a	2,65 ^b	0,06
Producción de grasa, g/d	1303 ^a	1174 ^b	2,99
Proteína, %	3,00 ^a	3,04 ^b	0,02
Producción de proteína, g/d	1364	1350	1,89
Lactosa, %	4,77	4,77	0,02
ESM ² , %	8,51	8,53	0,03
CCS ² , $\times 10^3 \text{ ml}^{-1}$	302,3	293,3	38,39

¹Ingestión de material seco individual medida en 40 vacas utilizando alcanos como marcadores en los 40 y 90 DEL.

²ESM: extracto seco magro, CCS: células somáticas.

^{a,b} Medias de una fila con diferente superíndice difieren entre sí ($P < 0,05$).

Figura 1. Concentración plasmática de 13,14-dihidro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ (PGFM) en el día 15 de un estro sincronizado en vacas CTR (n=16) y LIN (n=13).



* La concentración de PGFM tendió a ser más alta en las vacas alimentadas con CTR comparada con las LIN a los 0 y 45 min después de la inyección de oxitocina ($P < 0,10$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abayasekara, D.R.E., Wathes, D.C., 1999. Prost. Leuk. Essent. Fatty acids. 61, 275-287.
 Butler, W.R., 1998. J. Dairy Sci. 81, 2533-2539.
 Moore, K., Thatcher, W.W., 2006. J. Dairy Sci. 89, 1254-1266.
 Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N., 2004. Anim. Reprod. Sci. 82-83C, 513-535.
 Thatcher, W.W., Guzeloglu, A., Mattos, R., Binelli, M., Hansen, T.R., Pru, J.K., 2001. Theriogenology 56, 1435-1450.

EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE EXPLOTACIONES DE VACUNO DE CARNE EN ZONAS DE MONTAÑA DE ASTURIAS

García-Paloma, J.A.¹, Martínez, M.², Lombardía, V.², Suárez, F.²

¹ Área de Genética y Reproducción Animal. SERIDA. C/ Camino de los Claveles, 604. 33203 Gijón. Asturias. jagarcia@serida.org

² Veterinarios de Cangas del Narcea y Belmonte de Miranda

INTRODUCCIÓN

La producción de carne con vacas de cría en Asturias, es una actividad muy tradicional, basada en el aprovechamiento de pastos de zonas de montaña, y como consecuencia de ello, generadora y conservadora de espacios naturales de gran valor paisajístico y ambiental. Las explotaciones son de tipo familiar, tienen escasa dimensión, y a pesar de las ayudas que reciben por parte de la Administración, están en continuo descenso debido a su baja rentabilidad. En la convicción de que las explotaciones con futuro, serán las que mejor combinen los términos eficiencia y subvención, el objetivo que nos planteamos con este trabajo fue evaluar la eficiencia reproductiva de este sistema de producción, después de aplicar en varias ganaderías un programa técnico de actuación.

MATERIAL Y MÉTODOS

18 ganaderías de raza Asturiana de los Valles colaboraron en este trabajo durante los años 2002-2006. Los animales, en un promedio de 32 por explotación, se dividieron en tres categorías: novillas de primera cubrición (nov1C), novillas de primer parto (nov1P) y vacas. El programa aplicado se orientó a concentrar progresivamente los partos en el período septiembre-febrero, dadas las ventajas constatadas de esta alternativa (supervisión más fácil de los partos y de los terneros durante sus primeras semanas de vida, fin del cebo de los terneros antes de que las vacas ocupen las instalaciones durante el período invernal, mejores precios de venta de los terneros al destete o tras su cebo, y posibilidad de confirmar la preñez de las vacas antes de su traslado a los pastos comunales). El diagnóstico de la ausencia de actividad ovárica (anestro) se realizó a partir de los 60 días postparto, mediante dos controles distanciados 14 días (palpación ovárica y niveles de progesterona en suero; kit ELISA progesterona DRG Instruments). El anestro fue asociado a la ausencia de estructuras luteales o foliculares, con niveles de progesterona inferiores a 2 ng en ambos controles. A partir del mes de mayo, el anestro se diagnosticó por la ausencia de cubrición durante los primeros 80 días postparto. En los períodos febrero-abril para las nov1C y noviembre-abril para las otras dos categorías, los casos de anestro fueron tratados con progesterona intravaginal según el protocolo utilizado por García Paloma *et al.* (2005)

La eficiencia reproductiva se midió con dos parámetros: el intervalo entre la fecha de concepción y el inicio del período reproductivo (IPR), y la duración del tiempo improductivo. El IPR se identificó con los 60 días postparto, y en las nov1C, con el fin del tratamiento de inducción (anestro), o con la fecha de la exploración ovárica con diagnóstico de ciclicidad. La eficiencia reproductiva fue definida como buena o mala, según el intervalo concepción-IPR fuera menor o mayor de 42 días. Para todos los casos donde la valoración fue mala, se identificaron las causas que la condicionaron.

El tiempo improductivo se definió por los días transcurridos entre la fecha de la concepción y los 80 días postparto. Cuando las vacas salieron vacías de la explotación, la fecha de concepción se sustituyó por la fecha de desecho. Como es obvio, de esta valoración se excluyeron las nov1C. La fórmula (Σ tiempos improductivos/365)/número de partos nos permitió estimar el porcentaje de terneros que dejan de producirse en una ganadería por la falta de eficiencia reproductiva.

El análisis estadístico se realizó con el programa SAS v.8.0, empleando el procedimiento FREQ y el estadístico Cochran M-H para establecer diferencias entre las variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se puede apreciar que durante el periodo noviembre-abril, mayoritariamente de estabulación invernal, la incidencia de anestro fue significativamente superior al resto del año, caracterizado por el pastoreo. La duración del fotoperiodo, el estado nutricional y la ausencia del toro han sido referidos como condicionantes de la actividad ovárica en vacas de cría (Yavas y Walton, 2000, Small *et al.*, 2003). La reactivación ovárica provocada por el tratamiento con espiral intravaginal en los casos de anestro fue superior al 93 % y no se encontraron diferencias entre categorías.

Tabla 1. Porcentaje de anestro, según mes del periodo reproductivo y categoría

	nov-ene	feb-abr	may-jul	ago-oct	p
nov1C		72			
nov1P	69	79	23	18	**
vacas	24	42	10	7	**
p	**	**	*		

El mes del periodo reproductivo se identificó con el inicio del periodo reproductivo en nov1C y con los 60 días postparto en las otras dos categorías. ** $p < 0,001$, * $p < 0,01$

El porcentaje de animales con buena eficiencia reproductiva (Tabla 2) apenas superó el 70 %. No hubo diferencias entre los animales con periodo reproductivo en estabulación invernal y en pastoreo, de lo que podemos deducir que, corregido el elevado anestro invernal, otros factores ajenos a la actividad ovárica postparto estarían incidiendo en la eficiencia reproductiva de estas explotaciones.

Tabla 2. Porcentaje de animales con buena eficiencia reproductiva, según mes del periodo reproductivo y categoría

	nov-ene	feb-abr	may-jul	ago-sep	p
Novillas 1 ^a C		67			
Novillas 1 ^{er} P	55	64	69	58	
Vacas	63	73	74	71	

En la Tabla 3 se muestran las causas responsables de la mala eficiencia reproductiva en estos sistemas de montaña. Se debe tener en cuenta que aquí están representados en torno al 30 % de los animales de cada ganadería, y que en un mismo animal pueden coincidir varias causas.

La causa que más condicionó la mala eficiencia reproductiva fue la ausencia de toro. De manera que los requisitos enunciados por Parkinson (2004), para un rebaño de alta eficiencia reproductiva: vacas cíclicas en un postparto temprano y en presencia permanente de un toro de contrastada fertilidad hasta la confirmación de su preñez, no se cumplen plenamente. En estas ganaderías donde se suele disponer de un solo toro, el aprovechamiento de los pastos propios se realiza en varios lotes como consecuencia de la pequeña dimensión de las fincas. Esta limitación no siempre se corrige en los pastos comunales, unas veces porque los toros no se llevan por temores sanitarios, y otras, porque el rebaño se dispersa en diferentes zonas de pastoreo. La baja fertilidad manifestada por

algunos toros agrava aún más la situación anterior. La valoración de la aptitud reproductiva de los toros antes de iniciar su período de cubrición podría corregir en gran medida el efecto de estas dos causas (Barth, 2000).

Tabla 3. Porcentaje de animales afectados por cada una de las causas que originaron mala eficiencia reproductiva, según categoría

	Más de 2 servicios	Muerte embrionaria	Aborto	Baja fertilidad toro	Ausencia toro	Demora servicio
nov1C	23	28	16	28	44	3
nov1P	29	12	9	9	36	30
vacas	27	11	9	10	40	21

Junto a estas causas inherentes al toro, concurren otras relacionadas con la fertilidad de las vacas (más de dos servicios, muerte embrionaria y aborto), cuyo origen puede estar asociado a otras más difíciles de determinar (alimentación, sanidad, partos distócicos). Finalmente, cabe señalar otras causas que están en la voluntad del ganadero, como la demora intencionada del servicio con el fin de planificar la fecha de parto, o la decisión de no cubrir vacas por tener su desecho previsto.

Respecto al parámetro de pérdidas de terneros por ganadería en función de los períodos improductivos acumulados de cada una de sus vacas, podemos decir a modo de ejemplo, que en una ganadería donde se diagnosticó infertilidad en el único toro disponible tras tres meses de servicio, la estimación de terneros perdidos fue del 30 %.

Como conclusión, podemos decir que mejorar la eficiencia reproductiva de las ganaderías de estos sistemas de montaña no es fácil. Las pautas de actuación se deberían centrar en los siguientes aspectos: controlar la actividad ovárica del rebaño durante el período de estabulación invernal, valorar la aptitud reproductiva de los toros antes del servicio, ajustar las raciones invernales considerando la calidad de los forrajes utilizados y planificar estrategias de prevención sanitaria respecto a las enfermedades de transmisión venérea.

AGRADECIMIENTOS: Proyecto concertado con ASEAVA y financiado por el Plan de I+D+I de Asturias

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barth, A.D. 2000. Bull breeding soundness evaluation manual. The Western Canadian Association of Bovine Practitioners, Western College of Veterinary Medicine., Saskatoon.
- García Paloma, J.A., Lombardía, V., Martínez M.A., Suárez, F. 2005. Utilización de espirales intravaginales en el control reproductivo de explotaciones de vacuno de carne en zonas de montaña., pp. 413-415. *XI Jornadas sobre Producción Animal. ITEA, Zaragoza.*
- Parkinson, T., 2004. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. *Vet. J.* 168: 215-229.
- Small, J., Glover, N., Kennedy, A., McCaughey, W., Ward, D. 2003. Photoperiod effects on the development of beef heifers. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 721-730.
- Yavas, Y., Walton, J.S. 2000. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology* 54: 25-55.

PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN LA POBLACIÓN BOVINA AUTÓCTONA PORTUGUESA BARROSÃ: EFECTOS SIGNIFICATIVOS PARA EL INTERVALO ENTRE PARTOS DE LA RAZA

Vieira, A.N.¹; Antunes, V.²; Costa, M.C.²; Vieira, J.²; Cerqueira, E.¹; Costa, M. L.¹; Martinez, M.G.¹ Oliveira, J.C.¹.

¹Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima Portugal; nunobrito@esa.ipvc.pt,

²AMIBA – Associação dos Criadores Bovinos da Raça Barrosã e Ovinos Bordaleiros, Rua Franca, nº 534, 4800-875 São Torcato Guimarães

INTRODUCCIÓN

Las razas autóctonas son hoy ejemplos de preservación y conservación de recursos genéticos y fenómenos de manutención y fijación de poblaciones rurales, presentando importante papel en el desarrollo económico de zonas desfavorecidas. Como ejemplo, se refiere la raza autóctona Portuguesa Barrosã, una de las más antiguas y emblemáticas, de vocación cárnica, presente en el Norte de Portugal y caracterizada por efectivos de reducida dimensión (Brito, 2002). Estudios recientes, sobre su origen genético y parámetros productivos (Pedrosa, 2006; Ribeiro, 2007), evidencian la necesidad de profundizar en los conocimientos sobre la raza, y particularmente sus parámetros reproductivos. Estos son uno de los estrangulamientos de los sistemas productivos de las poblaciones autóctonas. El intervalo entre partos, importante para la producción del ternero, producto final de la raza, está condicionado por un grupo importante de factores como el propio parto, la primera ovulación, la fecundación, y la duración de la gestación, dependientes en gran medida de factores medioambientales. El objetivo de este estudio es analizar la influencia de los distintos efectos en el intervalo entre los partos de la raza Barrosã, basados en los datos recogidos pela respectiva Asociación de Productores.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se usaron datos provenientes de los registros de la Asociación de Criadores de la raza Barrosã, AMIBA. Para tal, se analizaron los datos correspondientes a 10555 partos, ocurridos entre los años de 1999 a 2005, correspondiendo a 3858 hembras de la raza inscritas en su respectivo Libro Genealógico.

Esta muestra fue resultado de limitaciones impuestas por los respectivos datos, siendo considerados apenas valores de intervalo entre partos (IP) entre los 11 y 36 meses. Se analizaron los efectos época del parto, método de reproducción, edad al parto, número del parto, zona y región de producción, así como sus interacciones, en el intervalo entre partos.

Se definieron, aún, clases por zonas de altitud, inferior y superior a 800 metros (intermedia y montaña respectivamente) y áreas de producción, Miño y Barroso.

El tratamiento estadístico se hizo con recurso al programa SPSS para Windows, versión 13. Las medidas de estadísticas descriptivas usadas fueron la media, desviación estándar (d.e.) y coeficiente de variación (CV), usándose el procedimiento ANOVA para el estudio de la varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo para esta muestra, un IP de $15,58 \pm 4,48$ meses y un efecto significativo ($P \leq 0,05$) de la época de parto, edad al parto, zona y región de producción. Para la época de Abril a Junio el IP es menor, que podrá estar asociado al momento de la cubrición, ocurrida entre Julio y Septiembre, época en que los animales se presentan libres en el pastoreo, sobretudo en zonas de montaña y con la presencia del toro reproductor, sistemas típicos de la raza (Cuadro 1).

Se constató la influencia agro ecológica de la zona de producción de mayor relevo en el IP, correspondiendo al Barroso mejores resultados (Cuadro 3), fruto de sistemas de producción más extensivos, localizados a mayor altitud (>800 metros), indicando la buena adaptación fisiológica da raza a ecosistemas de montaña (Cuadro 2). Sobre el efecto del área de la producción, se verificó que el intervalo entre el parto en las áreas montañosas es

inferior relativamente a áreas intermedias, condicionado por sistemas alimentarios distintos y métodos de cubrición.

La región de producción influye significativamente en el IP (Cuadro 3), presentando la zona solar de la raza mejores resultados. Estos resultados pueden ser explicados por la influencia del manejo productivo y reproductivo, pues en el área de Barroso, con sistemas de mayor dimensión y mayor extensificación, los animales permanecen en pastoreo todo el año, inclusive en las épocas de invierno y acompañados con toros de rebaño. En Miño, con exploraciones de menores dimensiones y pequeños efectivos, característicos de zonas de minifundio y sistemas alimentarios más dependientes de la oferta del productor, de mayor edad y menor grado técnico, los cuidados reproductivos se presentan menos considerados.

Otro efecto estudiado fue la edad al parto y su influencia en el intervalo entre partos de la raza Barrosã. Los resultados presentan mejores índices reproductivos en hembras con edad superior a 72 meses, traduciendo una selección dirigida, pero "empírica", por parte de los criadores que eliminan animales de menor eficiencia reproductiva, o sea, con intervalos entre partos alejados de un año (Cuadro 4).

El IP también se mostró significativamente diferente para el número de partos (Cuadro 5). Esta tendencia, coincidiendo con la anterior observación, podrá estar relacionada con la selección dirigida do productor a parámetros reproductivos que influyen todas las decisiones productivas, incluso la eliminación de las hembras no productivas para abate. En este tipo de producción, el principal criterio de selección es basada en el rendimiento de la hembra (segmento madre), presentando como objetivo económico y reproductivo, la producción anual de terneros para comercialización.

Fueron todavía analizados otros dos efectos, como el método de reproducción y el número de cubriciones, aunque no se tenga verificando diferencias significativas relativamente al IP.

Las razas autóctonas, a pesar de la existencia de programas y técnicas de mejora y conservación de las razas, apenas podrán sobrevivir con la adopción de una política que beneficie los aspectos sociales de la actividad, asegurando su sustentación productiva, que promueva el equilibrio y desarrollo rural, preservando un inestimable patrimonio genético. Así se muestra urgente la creación de un centro de cría de hembras, con objetivo de valorar parámetros productivos y reproductivos de la raza y ofertando los mejores ejemplares criados para la preservación y mejora de esta relevante raza bovina portuguesa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, N., 2002. Contribuição para o estudo de algumas raças bovinas autóctones do noroeste de Portugal: Análise do sistema produtivo e caracterização biométrica, produtiva, genética das raças bovinas Arouquesa, Barrosã e Cachena: perspectivas e evolução. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, 2002.
- Pedrosa, S., 2006. El ADN mitocondrial de la domesticación animal: Origen de las razas ovinas y bovinas ibéricas. Tesis Doctoral. Universidad de León, España
- Ribeiro V., 2007, Caracterização de parâmetros reprodutivos na raça bovina barrosã, Relatório final de curso. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima. Portugal.

Cuadro 1 – Valores medios del IP para las distintas épocas de partos

Época del parto	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV (%)	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
ENE - MAR	1713	15,65b	4,72	3,31	11,00	36,00
ABR – JUN	1921	15,24a	4,37	3,49	11,00	35,97
JUL - SEP	1699	15,47a,b	4,25	3,64	11,00	35,90
OCT – DIC	1367	16,10c	4,56	3,53	11,00	35,67

a≠b≠c para P≤0,05

Cuadro 2 – Valores medios del IP en función de la Zona de Producción

Zona	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV (%)	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
Montaña	5024	15,44 ^a	4,38	3,52	11,00	36,00
Intermedia	1676	16,00 ^b	4,73	3,38	11,00	35,90

a≠b para $P \leq 0,05$

Cuadro 3– Valores medios del IP en función de la región

Región	N	Media (meses)	Desvío padrón (meses)	CV (%)	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
Barroso	2079	15,24 ^a	4,26	3,58	11,00	35,97
Miño	4556	15,70 ^b	4,50	3,49	11,00	36,00

a≠b para $P \leq 0,05$

Cuadro 4 – Valores medios del IP para las distintas clases de edad al Parto

edad al parto	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV (%)	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
20-48 meses	881	14,17 ^a	2,24	6,34	11,00	22,33
48-72 meses	3212	15,86 ^b	4,45	3,56	11,00	36,00
+72 meses	2607	15,71 ^b	4,97	3,16	11,00	35,97

a≠b para $P \leq 0,05$

Cuadro 5– Valores medios del IP en función del n.º del parto por hembra

N.º de partos	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV (%)	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
2	755	17,23 ^a	5,29	3,26	11,00	36,00
3	1277	16,35 ^b	4,96	3,30	11,00	35,73
4	1633	16,10 ^b	4,80	3,35	11,00	35,97
5	1628	15,28 ^c	4,03	3,78	11,00	35,67
6	1037	14,10 ^d	2,88	4,89	11,00	31,97
+7	370	12,78 ^e	1,47	8,71	11,00	23,57

a≠b≠c≠d≠e para $P \leq 0,05$

ESTUDIO DE DIFERENTES EFECTOS INFLUENCIADORES EN LA EDAD AL 1º PARTO EN LA RAZA BOVINA AUTOCTONA PORTUGUESA BARROSÃ

Vieira, A.N.¹; Antunes, V.²; Costa, M.C.²; Vieira, J.²; Cerqueira, E.¹; Costa, M. L.¹; Martinez, M.G.¹ Oliveira, J.C.¹.

¹Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima Portugal; nunobrito@esa.ipvc.pt,

²AMIBA – Associação dos Criadores Bovinos da Raça Barrosã e Ovinos Bordaleiros, Rua Franca, nº 534, 4800-875 São Torcato Guimarães

INTRODUCCIÓN

La preservación del patrimonio y diversidad genética, así como y la preocupación por el abandono de áreas de ecosistemas montañoses, importantes para el desarrollo rural, son dos de las razones que justifican la promoción de razas autóctonas, en las cuales se incluye la raza bovina autóctona Portuguesa Barrosã.

El origen de la Raça Barrosã y su relación con las otras razas de la Península Ibérica presenta distintas teorías, divergiendo distintos autores en cuanto a su ruta de entrada en la Península Ibérica y tronco de origen (Brito, 2002; Pedrosa, 2006; Ribeiro, 2007). Se considera, todavía, una de las razas autóctonas más importantes, de aptitud cárnica, del norte de Portugal, y, aunque su solar se localice en las tierras del Barroso, es en el Miño donde más se explora hoy (Figura 1).

El mantenimiento productivo de esta raza, sustentable y holístico, se apoya en tres pilares, el reconocimiento del productor como guardián de la biodiversidad, promoción y preservación del paisaje, protegiendo las tierras del fuego y posibilitando el desarrollo de otras actividades complementarias como el turismo.

Para reducir el efecto del éxodo rural por parte de las poblaciones y el abandono consecuente de las actividades agrícolas, y para la promoción de las razas autóctonas, es indispensable la optimización de los parámetros productivos y reproductivos, asegurando, así, el mantenimiento de los sistemas de producción más tradicionales. En un sistema de producción de carne, basado en el segmento madre-hijo, el conocimiento de los parámetros productivos es fundamental para reducir los estrangulamientos reproductivos y mejorar así la eficacia productiva de estos animales.

La edad al primer parto es una de las condicionantes económicas de estos sistemas de producción tradicionales, y aunque se observe alguna diversidad, su reducción presenta distintas ventajas, tanto económicas como productivas, siendo la edad óptima para el primer parto, en esta raza, próxima de los 24 meses. Factores biológicos como la edad a la pubertad y el manejo productivo o alimentario se puedan revelar como grandes condicionantes para la obtención de este objetivo.

El objetivo de este estudio es el análisis de distintos parámetros reproductivos en la edad al primer parto de hembras de la raza Barrosã, especialmente el método de reproducción y la región de producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se usaron datos provenientes de los registros de la Asociación de Criadores de la raza Barrosã, AMIBA. Para tal, se analizaron los datos correspondientes a primeros partos ocurridos entre los años de 1999 a 2005, correspondiendo a 3855 hembras de la raza inscritas en su respectivo Libro Genealógico.

Esta muestra fue resultado de limitaciones impuestas por los respectivos datos, siendo considerados apenas valores de edad al primer parto (EP) entre los 24 y 48 meses. Se analizaron los efectos época del parto, método de reproducción, zona y región de producción, así como sus interacciones, sobre el intervalo entre partos. Se definieron también clases por zonas de altitud, inferior y superior a 800 metros (intermedia y montaña respectivamente).

El tratamiento estadístico se hizo con recurso al programa SPSS para Windows, versión 13. Las medidas de estadísticas descriptivas usadas fueron la media, desviación estándar (d.e.) y coeficiente de variación (CV), usándose el procedimiento ANOVA para el estudio de la varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

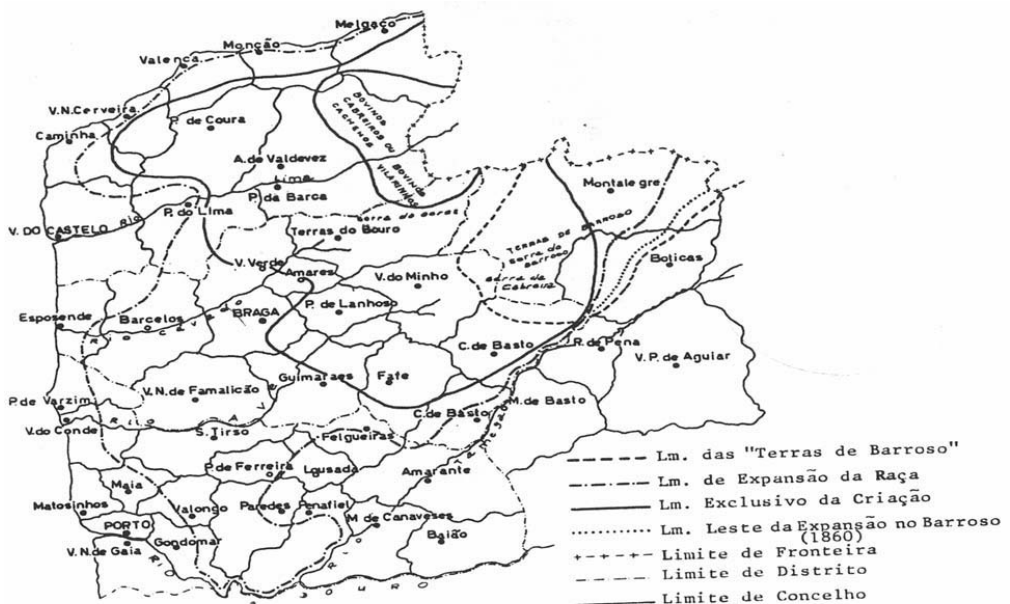
Se obtuvo una edad media al primer parto de $35,23 \pm 6,87$ meses, verificándose un efecto significativo de los métodos de reproducción (Cuadro 1) y del área geográfica de producción (Cuadro 2). Se observó un efecto de la inseminación artificial en la edad primero parto, con valores superiores en hembras cubiertas por monta natural, traduciendo la preocupación de los productores en aumentar la vida productiva de las hembras y, de forma indirecta, sus aspectos económicos.

En la zona de producción del Barroso se observó mayor precocidad en primero parto, resultado de mejor adaptación ecológica de la raza, de productores con mayores efectivos y mejor manejo productivo, en que la recría de novillas se realiza para sustitución y venta de reproductores. Por otro lado, en la región del Miño, solo en los productores que usan la inseminación artificial y con reducida recría de novillas, por estrangulamientos de propiedad, se observan algunas preocupaciones con aspectos reproductivos y, consecuentemente, mejores índices al primero parto.

La influencia del manejo productivo y reproductivo se observa, pues, en las regiones de producción. En el área de Barroso, los animales permanecen en pastoreo durante casi todo el año, inclusive en las épocas más frías, contrastando con el área de Miño, en que las explotaciones de menores dimensiones usan distintos modos de producción, pero basados en sistemas de mayor estabulación y preocupación nutricional.

Las razas autóctonas, a pesar de la existencia de programas y técnicas de mejora y conservación de las razas, apenas podrán sobrevivir con la adopción de una política que beneficie los aspectos sociales de la actividad, asegurando su sustentación productiva, que promocióne el equilibrio y desarrollo rural, preservando un inestimable patrimonio genético. Así se muestra urgente la creación de un centro de recría de hembras, con el objetivo de valorar los parámetros productivos y reproductivos de la raza, y permitiendo la recría de los mejores ejemplares de la raza.

Figura 1 - Miño y tierras del Barroso



Cuadro 1 – Valores medios de la Edad al 1º Parto en función del Método de Reproducción

Método de reproducción	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV %	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
Monta Natural	3138	35,35 ^a	6,88	5,14	20,00	48,00
Inseminación Artificial	717	34,69 ^b	6,81	5,09	21,23	47,97

a≠b para P≤0,05

Cuadro 2 – Valores medios de la Edad al 1º Parto en función de la Región de Producción

Región de Producción	N	Media (meses)	d.e. (meses)	CV %	Mínimo (meses)	Máximo (meses)
Barroso	1053	34,10 ^a	7,20	4,74	20,40	48,00
Miño	2745	35,75 ^b	6,64	5,38	20,00	48,00

a≠b para P≤0,05

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brito, N., 2002. Contribuição para o estudo de algumas raças bovinas autóctones do noroeste de Portugal: Análise do sistema produtivo e caracterização biométrica, produtiva, genética das raças bovinas Arouquesa, Barrosã e Cachena: perspectivas e evolução. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, 2002.
- Pedrosa, S., 2006. El ADN mitocondrial de la domesticación animal: Origen de las razas ovinas y bovinas ibéricas. Tesis Doctoral. Universidad de León, España
- Ribeiro V., 2007, Caracterização de parâmetros reprodutivos na raça bovina barrosã, Relatório final de curso. Escola Superior Agrária de Ponte de Lima. Portugal.

DESARROLLO DE UNA NUEVA VARIANTE DEL MÉTODO B.O.S. DE SINCRONIZACIÓN PRECISA DE CELO CAPRINO PARA AUMENTAR LA TASA DE GEMELARIDAD SIN UTILIZAR GONADOTROPINAS. PRIMERA FASE

Hernández, F.I., Serrano, A., Gordón, A., Risco, A.

Centro de Investigación La Orden-Valdesequera, Junta de Extremadura. Carretera Nacional V, Km 374, Guadajira 06071 (Badajoz); francisco.hernandez@juntaextremadura.net

INTRODUCCIÓN

Los tratamientos progestativos aumentan la eficacia del efecto macho en caprino, incrementándose la tasa de celos de la primera ovulación (100 vs. 55%), disminuyendo la presentación de ciclos cortos (5 vs. 80%) y aumentando (78 vs. 15%) la tasa de concepción en monta natural al primer celo (Chemineau, 1985). El efecto macho ha sido provocado en ovino dos días antes de la retirada de progestágeno con aceptable fertilidad en monta natural (Folch *et al.*, 1983). El método B.O.S. (“Bioestimulación de la Ovulación Sincronizada”), que hemos desarrollado anteriormente (Hernández *et al.*, 2003), consigue una sincronía de celo y unas tasas de celo y concepción similares a las de los métodos clásicos de sincronización precisa de celo pero utilizando el efecto macho en lugar de eCG (PMSG), con lo cual se evitan las reacciones inmunitarias (Baril *et al.*, 1996) que disminuyen a largo plazo la eficacia de esta hormona, que además encarece considerablemente el tratamiento. Al no precisar del uso de prostaglandinas en primavera, este nuevo método consigue una reducción adicional de costes. En el método B.O.S., la baja dosis de FGA (mitad de la usual) y los 3 días de espera desde la introducción de machos recela hasta la retirada de esponjas parecen potenciar el crecimiento folicular que induce el efecto macho, el cual se provoca tras la emergencia folicular que ha sincronizado (mediante previa atresia folicular) la progesterona inyectada 3 días antes.

En el presente estudio se evaluó la utilización del efecto macho en lugar de eCG en la inducción y sincronización precisa de celos (método B.O.S.), con la finalidad de su aplicación para la inseminación artificial en primavera, con el adicional desarrollo de una variante corta (6 días), que sólo precisa la inmovilización de la cabra en 2 ocasiones en lugar de 3, y la determinación del efecto de distintos tiempos de monta con respeto a la retirada del tratamiento progestativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron en primavera 73 cabras Veratas en pastoreo y ordeño que habían sido separadas de los machos desde 2 meses antes. Doce machos Veratos fueron empleados para detección de celos y provocación del efecto macho (enmandilados y con arnés marcador), así como para la monta. Durante el periodo de separación, dichos machos tuvieron contacto regular con hembras no experimentales para mantenimiento de la libido. Los tratamientos se testaron mediante monta natural dirigida. Los tratamientos fueron los siguientes (Fig. 1): Grupo 1 (G1; Control): el protocolo fue el clásico, utilizándose una esponja vaginal de FGA (45 mg) durante 11 días (días 0 a 11). Se inyectó eCG (PMSG; 500 UI, IM) 2 días antes (día 9) de la retirada de esponjas. Grupo 2 (G2; método B.O.S.): se utilizó la mitad de dosis de FGA durante 11 días y no se inyectó eCG. El día 5 se inyectó progesterona (25 mg IM en solución oleosa) y el día 8 se introdujeron los machos recela. Grupo 3 (G3; método B.O.S. corto): tratado como el Grupo 2 pero inyectando la progesterona el día de inserción de esponjas, que permanecieron sólo 6 días. En los 3 Grupos se omitió la prostaglandina, pues nuestros datos ecográficos y

1 dosis FGA														Subgrupos de monta:	
D0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
PE	G 1 (n=24)								eCG	RE	M				
1/2 dosis FGA														A: 45h. B: 51h. C: 45 y 51h.	
D0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
PE	G 2 (n=24)				P4	EM			RE	M					
1/2 dosis FGA															
D0	1	2	3	4	5	6	7	8	9						
PE	G 3 (n=25)						P4	EM	RE	M					

Figura 1. Diseño experimental. G: grupos. D: Día. PE: puesta de esponjas. P4: inyección de progesterona. EM: efecto macho. RE: retirada de esponjas. M: monta.

resultados anteriores (Hernández *et al.*, 2000, 2001, 2003) indicaron que no era necesaria, debido a la constante presencia de cabras acíclicas en primavera. La monta dirigida se llevó a cabo el segundo día después de la retirada de esponjas, permitiendo 2 montas/cabra y organizándose en 3 tipos (subgrupos) de monta para cada grupo de tratamiento: monta “temprana” o habitual (a las 45 h de la retirada de esponjas; subgrupos **A**); monta “tardía” (a las 51 h; subgrupos **B**); y monta “mixta” (a las 45 y 51 h; subgrupos **C**). A la mañana siguiente se permitió la doble monta de las cabras que no salieron en celo el día anterior. Este estudio adicional sobre la cronología de la doble monta dirigida se llevó a cabo para evaluar qué método era más efectivo y práctico desde el punto de vista del control de paternidad. Quince días después de la monta dirigida se llevó a cabo la segunda monta (“re-monta”), permaneciendo 2 machos con las hembras durante al menos 30 días.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las tasas de celo (Fig. 2) de G2 (protocolo B.O.S.) fueron o tendieron a ser mayores, respectivamente, que las de G1 (protocolo clásico; $p < 0.05$) y G3 (B.O.S. corto; $p < 0.1$). Las tasas de concepción fueron también mejores en G2, aunque las diferencias no fueron significativas. No obstante, el protocolo G3 tuvo una tasa de partos gemelares con respecto al n° de cabras paridas notablemente alto (82%), resultando mayor que en G1 ($p < 0.1$; tratado con eCG) y G2 ($p < 0.05$), lo que hizo que el número total de chivos paridos se igualara con el de estos dos Grupos.

Las tasas de celo y concepción según el tipo de monta no indicaron la necesidad de realizar una monta tardía ni mixta (Fig. 3; $p > 0.1$ para todas las comparaciones), siendo la temprana la más práctica desde el punto de vista de los horarios laborales y del control de paternidad. En cuanto a la sincronía de la aparición del celo (Fig. 4), ésta fue más notoria en G2 (B.O.S.). Una posible explicación para el inesperado aumento de la tasa de gemelaridad en G3 podría ser que los folículos ováricos debían estar menos desarrollados cuando comenzó el efecto macho, debido a la mayor carga de progestágeno de la esponja recién insertada y/o a no haber tenido tiempo éstos de crecer bajo el influjo del progestágeno a baja dosis antes de la inyección de progesterona inductora de atresia. Otro resultado inesperado fue que las tasas de celos y partos sincronizados de G1 resultaron apreciablemente más

bajas que las obtenidas con el mismo protocolo clásico en nuestros estudios precedentes (Hernández *et al.*, 2000, 2001, 2003). Una posible explicación puede ser la exposición de las hembras control, desde antes de la inyección de eCG, a los machos recela de los otros Grupos, que en esta ocasión, y debido a diversos problemas logísticos, no se pudo evitar. Recientemente se mostró en ovino un efecto similar, paradójicamente negativo, de la exposición a los machos durante el tratamiento con FGA-eCG (Hawken *et al.*, 2005).

En conclusión, buscando un protocolo más sencillo y corto (G3), hemos descubierto un

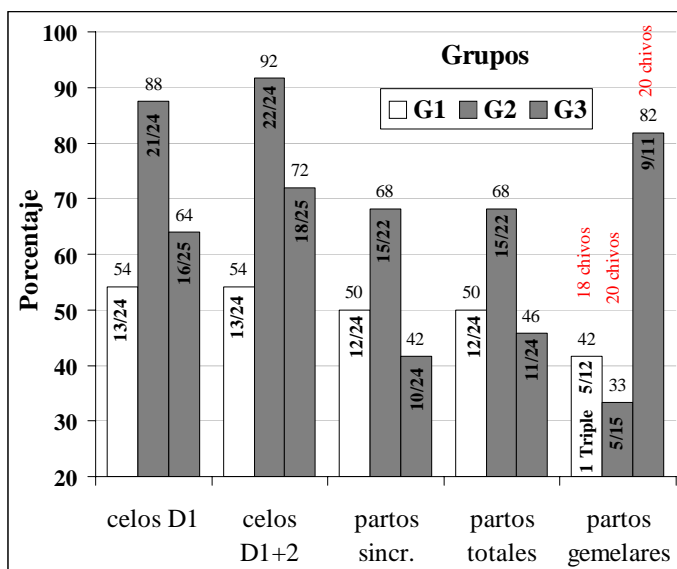


Figura 2. Tasas de celo y concepción según grupos de tratamiento. Celos (D1, D1+2): tasas de celo en monta dirigida el día 1 ó 1 y 2. Partos: sincr. (sincronizados); totales (sincr. + remonta); gemelares (rótulos verticales adyacentes: n° chivos/grupo).

sistema a desarrollar que parece aumentar la tasa de gemelaridad sin utilizar gonadotropinas (de ahí el título de este estudio), con lo cual podría llegar a desaparecer la única ventaja que tenía el protocolo clásico con respecto al B.O.S., aunque debemos seguir trabajando para aumentar la tasa de celos y gestación de esta nueva variante corta. De otro lado, la reciente prohibición en la Unión Europea de la aplicación parenteral de progesterona no impide que se pueda utilizar el método B.O.S. o sus variantes, puesto que, probablemente tras sencillas pruebas, la administración intravaginal de esta hormona en gel oleoso pueda sustituir fácilmente a su inyección intramuscular.

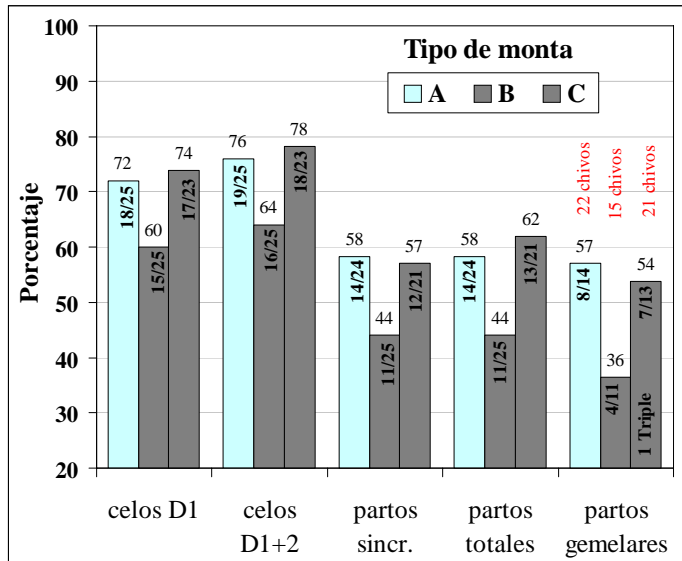


Figura 3. Tasas de celo y concepción según tipo de monta (A-temprana, 45h; B-tardía, 51h; C-mixta, 45 y 51h). D1, D1+2): día 1 ó 1 y 2 de la monta dirigida. Partos: sincr. (sincronizados); totales (sincr. + remonta); gemelares (rótulos verticales adyacentes: nº chivos/tipo de monta).

REFERENCIAS

- Baril G, Remy B, Leboeuf B, Beckers JF, Saumande J. 1996. *Theriogenology* 45(8):1553-1559.
- Chemineau, P., 1985. *Anim. Reprod. Sci.* 9, 87-94.
- Folch J, Paramio MT, Urbietta J, Valderrábano J. 1983. *ITEA* 53:45-52.
- Hawken PA, Beard AP, O'Meara CM, Duffy P, Quinn KM, Crosby TF, Boland MP, Evans AC. 2005. *Theriogenology* 63(3):860-71.
- Hernández FI, Pérez MA, Lucio R, Serrano A, Fernández de Castro JL. 2000. XXV Jornadas SEOC, pp. 619-622.
- Hernández FI, Lucio R, Pérez MA, Fernández de Castro JL, Serrano A. 2001. XXVI Jornadas SEOC, pp. 1033-1041.
- Hernández FI, Pérez MA, Fernández de Castro JL, Serrano A. 2003. XXVIII Jornadas SEOC, pp. 181-184.

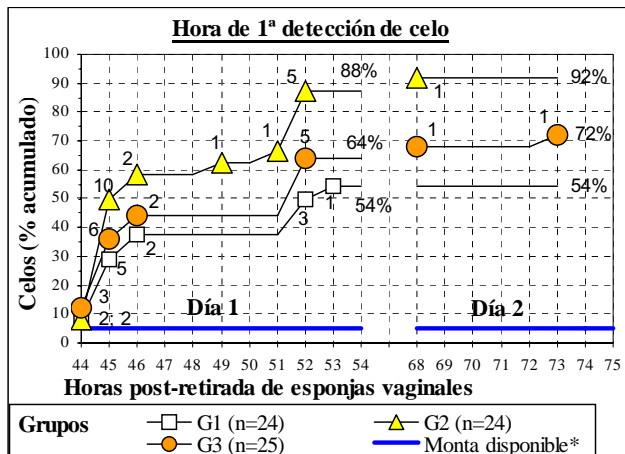


Figura 4. Hora de primera aceptación de monta en los 2 días de monta dirigida. Los números anejos a los marcadores indican el nº de cabras con nuevo celo o los porcentajes acumulados.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto INIA RTA04-145-C3; Cons. Infraestruct. y Desarr. Tecnol. (Junta de Extremadura).

INCORPORACIÓN DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN EL PROGRAMA DE MEJORA DE LA RAZA CAPRINA PAYOYA

¹Arrebola, F.A., ²González, O., ³Torres, R., ¹González, J., ¹García, A., ¹Martín, R.A.

1. IFAPA Centro de Hinojosa del Duque (Córdoba). francisco.arrebola.ext@juntadeandalucia.es
2. Asociación Nacional de Criadores de Caprino de Raza Payoya. 3. Diputación de Cádiz.

INTRODUCCIÓN

Andalucía es la región más importante de España en censo caprino con el 45 % del total de la cabaña (1.300.000 cabezas) y el 57% de la producción total de leche en España (Memoria 1999, 2001). Aunque la mejora alcanzada en infraestructuras, aspectos sanitarios, alimentación y aspectos organizativos ha sido aceptable, lo conseguido en mejora genética es prácticamente nulo.

La Asociación de Criadores de la Raza Caprina Payoya se creó en marzo de 1996, con los objetivos de conservar, mejorar y fomentar esta raza tan adaptada a la climatología de la zona de las Sierras de Cádiz y Málaga, que está catalogada como raza en peligro de extinción.

Actualmente esta asociación está formada por 57 socios, llevándose un control de 40 explotaciones, diferencia de número debida a la extendida práctica en la zona de los contratos de medianería, pudiendo tener un rebaño 2 titulares. Las explotaciones de ganado caprino de raza Payoya se distribuyen en las provincias de Cádiz, Málaga y Sevilla, fundamentalmente ligadas a zonas de orografía montañosa y de gran valor natural.

En España, dentro de los rumiantes, es en el ganado caprino donde la IA ha tenido menor desarrollo, debido en parte a su menor peso económico y en parte a ciertas características del sector, como la variedad de razas, diferencias de medio ambiente y sistemas de explotación. La tecnología actualmente utilizada de IA se corresponde con las técnicas descritas por Corteel y Leboeuf (1987) y Evans y Maxwell (1987). La problemática de su aplicación viene dada por las limitaciones de las metodologías requeridas, y por factores fisiológicos, como la estacionalidad en la actividad reproductiva y la especial configuración anatómica del cuello uterino de la cabra (Bunch y Ellsworth, 1981; Halbert *et al.*, 1990), junto con otros derivados del manejo sanitario, reproductivo y alimenticio de los animales.

En el año 2004 se suscribió un convenio entre el IFAPA y la Asociación Nacional de Criadores de Cabra Payoya, para poner en funcionamiento un programa de **Inseminación artificial** en sus rebaños, siendo el Centro de Recogida de Esperma Caprino de Hinojosa del Duque, el Centro de referencia para esta raza.

Con el uso de esta herramienta perseguimos conectar los rebaños del núcleo selectivo, e iniciar el testaje de machos en prueba en distintas explotaciones, inseminándose hembras de distintos rebaños, y valorándose sus hijas (control de producción y tipo morfológico).

MATERIAL Y MÉTODOS

La Asociación Nacional de Criadores de Cabra Payoya, cuenta con 57 socios, llevándose un control de 40 rebaños, con una distribución provincial de explotaciones que es la siguiente: Cádiz 31 (77%), Málaga 7 (17%), Sevilla 2 (6%).

Las ganaderías integradas en el esquema de selección cumplen los siguientes requisitos:

- o Identificación individual de los animales mediante tatuaje auricular.
- o Control de la cubrición y la paridera de las hembras.
- o Control de nacimientos.
- o Control de la genealogía materna de la reposición.
- o Control lechero de las hembras en lactación.
- o Calificación morfológica de los reproductores.

En el año 2006 el número de ganaderías en el núcleo de selección ha sido de 24, agrupándose en 17 rebaños. De ellos participan 7 en el programa de inseminación.

Las actuaciones realizadas en el CIFA (Centro de Investigación y Formación Agraria) de Hinojosa del Duque, dentro del programa de reproducción asistida, han sido las siguientes:

Selección de machos. En el año 2004 la Asociación realizó una selección de 7 cabritos para ingresar en el Centro de Testaje de Hinojosa del Duque, selección realizada a partir de

datos productivos y genealógicos de las dos ganaderías que llevaban más años en el programa de control lechero, valorándose en esta selección la producción de leche acumulada y aspectos de rusticidad y longevidad. En 2006 con el objeto de ir ampliando el plantel de machos en testaje se seleccionaron otros 7 machos de 2 explotaciones diferentes a las elegidas en el año 2004, siguiendo los mismos criterios.

Entrenamiento de machos para monta en vagina artificial. Los machos ingresan en el Centro de Testaje con 4-5 meses de edad, realizándose los pertinentes controles sanitarios durante la cuarentena (tuberculosis, brucelosis, paratuberculosis, CAEV y Border Disease). Deben adaptarse a la monta sobre vagina artificial (Chemineau y Cognie, 1991), si bien hasta hora no ha habido eliminación de animales por no adaptarse a esta práctica.

Contrastación y valoración seminal. Se realizan la contrastación y valoración seminal por los métodos clásicos (consistentes en la valoración del volumen eyaculado, concentración seminal, motilidad masal, motilidad individual y porcentaje de morfoanomalías).

Una vez realizadas todas estas pruebas, se han desechado los eyaculados que no superen los valores umbrales establecidos por Evans y Maxwell (1987).

Preparación de dosis de semen. Se preparan dosis de semen para uso en temperaturas de refrigeración y congelado en nitrógeno líquido.

En cuanto al **control del ciclo reproductivo en las hembras para IA**, se preparan lotes de cabras, que deben cumplir los siguientes requisitos:

- o Estar perfectamente identificadas, e inscritas en Libro Genealógico.
- o Estar en control lechero.
- o Ser hembras multíparas.
- o Se realiza una ecografía previa, para detectar pseudogestaciones, y confirmar que están vacías.
- o Estado sanitario óptimo, no presentando signos de enfermedad.
- o Que en los últimos 42 días no hayan estado en contacto con sementales.
- o Deben haber transcurrido al menos 180 días desde el parto.

Con el lote de hembras se procede a su sincronización hormonal (método clásico de 11 días con esponjas vaginales de 45 mg de progest, e inyección el día 9 de prostaglandina y PMSG). La inseminación se realiza a las 46 horas post-retirada de la esponjas.

La inseminación artificial (tanto con semen fresco refrigerado como con congelado) se realiza vía cervical profunda.

Se controla la fertilidad mediante diagnóstico ecográfico a 45 días post-inseminación.

Posteriormente se controlan los nacimientos, y se procede a la identificación y controles de paternidad de la descendencia.

Se visitan periódicamente las explotaciones hasta que los animales tienen una edad suficiente para identificarlos de manera definitiva mediante tatuaje auricular (muy difícil de apreciar en razas con mucosas oscuras) y las medallas de las patas (en algunas explotaciones la medalla con el número que llevarán en el tatuaje es la que se le coloca desde el nacimiento en el cuello). Las medallas de las hembras hijas de inseminación tienen un color distinto (naranja) a las que se usan en el resto de hembras, así podemos distinguirlas a simple vista y llevar un control riguroso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el año 2004 se inició el programa de IA con 7 machos cabríos. Todos los machos presentaron una aptitud positiva para la monta en vagina artificial, buena calidad seminal y buena capacidad para la congelación del semen en nitrógeno líquido, éste es un criterio eliminatorio. De hecho, la calidad seminal de la raza Payoya supera en medias de motilidad masal e individual a lo largo del año a los machos de raza Murciano-Granadina.

La preparación de dosis seminales se realiza siguiendo los protocolos clásicos (Leboeuf *et al.*, 1998; Chemineau y Cognie, 1991; Roca *et al.*, 1994)

En 2005, teniendo los machos un desarrollo corporal mayor, tras una valoración morfológica por parte de los técnicos de la asociación y técnicos expertos se desecharon 3

de los 7 machos, uno por deficiencias en los aplomos traseros; otro por ser un poco estrecho y otro por problemas sanitarios, con lo que el plantel de machos se redujo al número de 4, con los que se ha realizado la campaña de IA en 2005 y 2006.

Los resultados de las IA realizadas en estas dos anualidades, con una distribución proporcional de los machos en las explotaciones han sido:

Año	Semen Congelado			Semen Refrigerado		
	Nº cabras IA	Nº IA positivas	% fertilidad	Nº cabras IA	Nº IA positivas	% fertilidad
2005	130	58	44,6	121	70	57,9
2006	211	94	44,5	227	147	64,8
total	341	152	44,6	348	217	62,4

Se comenzó el programa de IA en 2005 en 6 explotaciones, con el objetivo de comenzar la conexión de los rebaños, y ajustar la IA a una cabra de gran talla corporal, de elevado peso (a tener en cuenta en la sincronización hormonal), animales muy estacionales y en un sistema de explotación extensivo, con ganaderos que hubo de formar e informar previamente, para su incorporación al programa.

Siguiendo estos objetivos se aumentó en 2 rebaños el número de ganaderías en 2006, y **se pasó de 251 hembras inseminadas en el año 2005 a 438 hembras inseminadas en el año 2006**. Se han inseminado pues, un total de 689 cabras, con 4 machos. La mitad de los animales se inseminan con semen congelado y la otra mitad con semen refrigerado. El porcentaje medio de fertilidad del semen congelado es del 44.6% y el del refrigerado de 62.4%. La fertilidad se considera a ecografía.

Las inseminaciones se realizan en los meses de abril y mayo solamente, por ser el momento en que los ganaderos prefieren realizar la sincronización de cabras para IA. Sin embargo, es un momento de elevada estacionalidad en esta raza, tanto en las hembras como en los machos (Zarazaga, 2003), lo que nos ha llevado a usar el fotoperiodo artificial en la nave de los sementales. Se sigue el control del un total 200 chivas hijas de IA, y de este número de animales han comenzado ya su primera lactación 90 cabras.

Agradecimientos: A la Dra. Isabel Vázquez González *alma mater* de la puesta en marcha del programa de inseminación artificial de caprino del Centro de Hinojosa del Duque.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bunch Y., Ellsworth H., 1981. Gross anatomy of the ovine cervix. *Int. Goat and Sheep Res.* 1:282-285
- Chemineau P., Cogne Y., 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO, Roma.
- Corteel J.M., Leboeuf B., 1987. Development and application of Artificial Insemination with deep frozen semen and out-of season breeding of goats in France. *Proceedings 14th Intern. Conf. on Goats*. Brasilia, Brasil, march 9-13. Vol I, 523-547.
- Evans G., Maxwell W.M.C., 1987. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial Acribia, S.A.
- Halbert G.W., Dobson J.S., Bucknell B.C., 1990. Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology*33: 993-1010.
- Leboeuf B., Manfredi E., Boue P., Piacere, A., 1998. L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez la chèvre laitière en France. *Productions Animales*. 1998, INRA, nº 11, pp 171-181.
- Memoria 1999, 2001. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.
- Roca M., Folch J., Erra J., Revilla R., 1994. Inseminación Artificial con semen refrigerado en la raza caprina Murciano-Granadina, adecuación del diluyente. VII Jornadas Int. Reproducción Animal. Murcia. 329.
- Zarazaga Garcés L.A., 2003. Comportamiento reproductivo del macho caprino. Gestión de la reproducción en pequeños rumiantes. Fichas CEVA, 13.

Nutrición-Alimentación

EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA SOBRE LA VALORACIÓN *IN SITU* DEL GRANO DE TRIGO*

Arroyo, J. M^a., González, J., Rodríguez, C. A., Alvir, M.R., Ouarti, M.
 Dpto. Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid. 28040 Madrid.
 Email: javier.gonzalez@upm.es

INTRODUCCION

Los sistemas actuales de valoración proteica para rumiantes requieren estimas efectivas fiables de la degradabilidad ruminal (DE) y de la digestibilidad intestinal de la fracción no degradada de los alimentos (DIE). Aunque existen datos de DE para numerosos cereales, los datos de DIE son mas escasos y apenas hay información para ambos parámetros tras corregir la contaminación microbiana que se produce en el rumen. El objetivo del presente trabajo fue determinar el valor proteico del trigo blando, midiendo la DE y la DIE de la proteína, usando N¹⁵ como marcador para corregir esta contaminación. Para la PB, también se han comparado las estimas de DE usando los métodos de i) integración matemática (Ørskov y McDonald (1979) y ii) el propuesto por González *et al.* (2005), basado en la generación de una muestra representativa de la fracción de MS indegradada del alimento, mezclando los residuos incubados de acuerdo con las cinéticas de degradación y transito.

MATERIAL Y METODOS

En estos ensayos se usaron tres corderos adultos, fistulizados en rumen y duodeno, alimentados con una ración de heno de ray-grass italiano picado (40%) y concentrado (60%), compuesto por trigo blando (78,7%), harina de girasol (20,3%) y minerales y vitaminas (1%). La ración se distribuyó a razón de 75g MS/Kg^{0,75}, en 6 comidas diarias. Se realizaron dos incubaciones en el rumen con muestras duplicadas, utilizando bolsas de nylon (7x11 cm de dimensiones internas y 46 µm de poro) conteniendo 3 g de muestra fresca (molida a 2 mm). Las bolsas se extrajeron del rumen tras tiempos de 2, 4, 8, 16, 24 y 48 h, siendo someramente lavadas con agua corriente y congeladas a -20 °C. Tras su descongelación, se lavaron en una mini-lavadora de turbina (3x5 min.). Este mismo proceso se aplicó para obtener el valor a 0 h. Una de las réplicas se volvió a congelar y se liofilizó. La otra se deseco en estufa (80 °C; 48 h) y se analizó para MS y N (método Dumas). La evolución en el tiempo de la desaparición de MS y PB se ajustó para cada animal, mediante regresión no lineal, al modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), estimándose los valores aparentes de DE para MS y PB de acuerdo a los mismos autores. A este fin, se asumieron las tasas fraccionales de salida de partículas del rumen (k_p) determinadas para cada cordero en este mismo experimento mediante el ajuste (Grovm y Williams, 1973) de la evolución de la concentración de iterbio (Yb) en la digesta duodenal tras el suministro de una dosis simple de harina de girasol (10 mg de Yb/g de alimento). Las muestras liofilizadas se utilizaron para generar, en cada cordero, una muestra representativa del flujo de MS no degradada (González *et al.*, 2003). A partir de estas muestras se determinaron los valores aparentes y corregidos de DE para MS, MO y PB y la DIE de la MS y PB. La DE se obtuvo a partir de las concentraciones en la muestra compuesta (X) y en el alimento (Y) y del valor de DE de la MS obtenido por el método de Ørskov y McDonald: $DE = 1 - [X (1 - DEMS)/Y]$. La DIE se determinó mediante la incubación de estas muestras (200 mg) en microbolsas de nylon móviles (mismo material; Ø= 2,2 cm; 8 bolsas/cordero). Las bolsas se introdujeron por la cánula duodenal y se recuperaron en las heces, tras lo cual se procesaron de forma análoga a la ya indicada para determinar la DIE de la MS. Los residuos se mezclaron para cada cordero y se analizaron para N. A partir del contenido en PB (Z), se determinó la DIE como: $DIE = 1 - [Z(1 - DIEDM)/X]$. Estos valores y los de DE fueron corregidos por la contaminación microbiana producida en el rumen. Para ello, a través de la cánula ruminal, se realizó una infusión continua de (¹⁵NH₄)₂SO₄ (30 mg ¹⁵N/día, 98 átomos %), desde 5 días

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGL 2005-01712.

antes de comenzar las incubaciones hasta su final. En ese momento, y antes de suspender la infusión, se aislaron muestras de bacterias adherentes, según la técnica descrita por Rodríguez *et al.* (2000), que se analizaron para MS, MO, N y N¹⁵/N.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores aparentes de los parámetros de las cinéticas de degradación y de la DE de MS y PB se muestran en la Tabla 1. Es destacable la alta desviación estándar (d.e.) obtenida para la tasa de degradación (k_d), tanto para MS como para PB, como consecuencia, en buena parte, de los elevados valores observados en uno de los corderos (78,5 y 62,4 %/h, respectivamente). El valor medio de la tasa de tránsito (k_p) fue de 6,23 %/h (d.e.: 0,667). Para la DE de la PB no se observaron diferencias entre los métodos de integración matemática y el simplificado aquí propuesto: 82.4 vs. 82.2% (e.s.m. 1.10; $P=0.953$), lo que es concordante con los resultados obtenidos en diferentes alimentos por González *et al.* (2005). Los valores aparentes de DE de la MS y PB son superiores a los obtenidos por González *et al.* (2003) para una muestra de trigo tratada con calor (82,4 y 70,5 %, respectivamente), siendo también superiores a los indicados para la PB por los sistemas PDI (Vérité *et al.* 1988) o NRC (2001): 74 y 78,1%, respectivamente. La principal causa de estas diferencias serían los muy elevados valores de k_d obtenidos en el presente estudio.

Tabla 1. Valores aparentes de los parámetros de las cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva de la materia seca (MS) y proteína bruta (PB) de una muestra de grano de trigo

	DM	CP
a (%)	36,4 (0,16)	16,6 (0,39)
b (%)	57,0 (0,56)	76,6 (0,83)
r (%)	6,55 (0,405)	6,81 (0,542)
k_d (%/h)	60,9 (15,3)	42,0 (17,7)
DE (%)	87,9 (1,94)	82,4 (4,42)

a , b y r representan las fracciones soluble, degradable e indegradable respectivamente. k_d tasa de degradación de la fracción b .

Los valores entre paréntesis representan la desviación estándar.

Los efectos de la corrección de la contaminación microbiana en las estimas de MS y PB para DE (mas MO), DIE y fracción digestible en el intestino (FDI) se muestran en la Tabla 2. Esta corrección resulta en pequeños pero significativos incrementos en la DE en todas las fracciones analizadas, que fueron del mismo orden que los obtenidos por Rodríguez y González (2006) para concentrados con bajo contenido en fibra. Esta corrección se asocia también con descensos para la DIE, al digerirse los microorganismos en el intestino y, por tanto, para FDI. Como los efectos de esta contaminación sobre DE y DIE son acumulativos, las estimas aparentes sobrestiman los valores FDI corregidos en 1,8 % ($P=0.038$) y 4.0 % ($P=0.035$), para la MS y la PB, respectivamente. Dado el bajo escape del rumen de ambas fracciones, estos errores aumentarían sensiblemente al considerarse, además de k_p , los mecanismos de atrapamiento de partículas en éste (González *et al.*, 2006). El valor aparente de DIE de la PB es similar al obtenido para la muestra de trigo tratada con calor anteriormente indicada (88,9%), siendo, en cambio, inferior al valor de 95% asumido para la digestibilidad intestinal por los sistemas PDI o NRC. El valor corregido de FDI de la PB (15% del total de PB) es pues inferior a las indicaciones de estos sistemas de racionamiento (27,4 y 20.8% para PDI y NRC, respectivamente).

Tabla 2. Efecto de la contaminación microbiana en el rumen sobre las estimas de degradabilidad ruminal efectiva (DE), digestibilidad intestinal efectiva (DIE) y fracción digestible en el intestino (FDI) de la materia seca (MS), materia orgánica (MO) y proteína bruta (PB) del grano de trigo.

	Aparente	Corregida	e. s. m.	P
<u>DE</u>				
MS	87,9	88,1	0,02	0.039
MO	88,1	88,2	0,02	0.040
PB	82,2	82,8	0,08	0.036
<u>DIE</u>				
MS	66,5	66,1	0,04	0.020
PB	87,7	87,3	0,05	0.036
<u>FDI</u>				
MS	8,03	7,89	0,020	0.038
PB	15,6	15,0	0,080	0.035

Considerando la metodología y la eficacia de síntesis microbiana indicadas por el sistema PDI, los aportes de PB digestible microbiana representarían el 80.8% del PDIE total de este alimento, mientras que si se considera la DE de la MO determinada *in situ* en este trabajo se obtiene un valor similar (81.3%). En su conjunto los resultados muestran que valor proteico de este alimento esta mas asociado a la síntesis de proteína microbiana que pueda generar en el rumen que lo que se considera usualmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- González, J., Ouarti, M., Alvir, M.R., Rodríguez, C. A. 2005. Propuesta de un método *in situ* simplificado para la evaluación proteica de los alimentos en rumiantes. ITEA Vol. Extra 25, 581-583.
- González, J., Ouarti, M., Rodríguez, C.A., Alvir, M.R. 2006. Effects of considering the rate of comminution of particles and microbial contamination on the accuracy of *in situ* studies of feed protein degradability in ruminants. Anim. Feed Sci. Technol., 125: 89-98.
- González, J., Faria-Mármol, J., Matesanz, B., Rodríguez, C. A., Alvir, M. R. 2003. *In situ* intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep. Reprod., Nutr., Develop., 43: 29-40.
- Grovum, W.L., Williams, V.J., 1973. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. Br. J. Nutr. 30, 313-329.
- NRC 2001. Nutrient requirements of dairy cattle, seventh revised edition. National Academy Press, Washington DC.
- Ørskov, E. R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci., Camb., 92: 499-503.
- Rodríguez, C. A., González, J. 2006. Composition of bacteria harvested from the liquid and solid fractions of the rumen of sheep as influenced by intake level. Br. J. Nutr., 96: 316-325.
- Rodríguez, C. A., González, J., Alvir, M. R., Centeno, C., Lamrani, F. 2000. Composition of bacteria harvested from the liquid and solid fractions of the rumen of sheep as influenced by intake level. Br. J. Nutr., 84: 369-376.
- Vérité, T, Chapoutot, P, Michalet-Doreau, B, Peyraud, J.L, Poncet, C. 1987. Revisión du système des protéines digestibles dans l'intestin (PDI). Bull. Techn. CRZV, Theix, Inra. 70: 19-34.

DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LA PARED CELULAR DEL HENO DE ALFALFA*

Alvir, M.R., Palacios, M., Rodríguez, C. y González, J.

Dpto. de Producción Animal. E.T.S I. Agrónomos.

Universidad Politécnica de Madrid. 28040 Madrid. Correo electrónico: mariar.alvir@upm.es

INTRODUCCIÓN

El valor nutritivo de los forrajes depende entre otros muchos factores del número de corte, que puede hacer variar su composición química y utilización digestiva, en particular su fermentación en el rumen. En el caso de los henos, hay que considerar también los efectos de factores ambientales o asociados con prácticas de manejo durante la henificación. Pese a su importancia a nivel de la ingestión, el tránsito digestivo y el suministro de nutrientes al animal, los estudios sobre la degradación ruminal de la fibra de estos alimentos son todavía claramente insuficientes. Debido a que la metodología para la estimación *in situ* por integración matemática de la degradabilidad efectiva (DE; Ørskov y Mc Donald, 1979) es muy laboriosa, ya que precisa de numerosas incubaciones y análisis químicos en función del tiempo de permanencia de las muestras en el rumen, Gonzalez *et al.* (2003) propusieron un método alternativo para determinar la DE mezclando los residuos de incubación ruminal para generar una muestra representativa del flujo post-ruminal del alimento. En el presente trabajo se ha aplicado este método a la determinación de la DE de la pared celular en henos de alfalfa de los que ya se conocía la DE de la MS y proteína bruta (PB) por el método tradicional (Alvir *et al.*, 1998 a, b; 1999).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron 10 henos de alfalfa, correspondientes a los cinco primeros cortes de dos parcelas (parcelas 1 y 2) ubicadas en Aranjuez (Madrid). Estos cortes se realizaron de Mayo a Agosto en el estado fenológico de floración y el henificado se realizó en condiciones naturales. Aunque en ambos casos existió un sexto corte, la cantidad disponible de residuos de incubación no permitió la generación de la muestra compuesta. Las muestras fueron molidas con criba de 2mm para los estudios de degradación ruminal y de 1mm para los parámetros químicos indicados en la Tabla 1.

Se emplearon 3 corderos adultos fistulizados en rumen y alimentados con una ración de heno de alfalfa y pienso concentrado en proporción 2:1 en base a MS, distribuida, en dos comidas por día (9:00 y 17:00 h), a un nivel de 40 g MS/kg P^{0.75}. La estimación de las cinéticas de degradación se realizó "*in sacco*", utilizando bolsas de nylon (6,5 x 10,5 cm), con un tamaño de poro de 46 µm, conteniendo 3 g de muestra. Un total de 42 bolsas por alimento, repartidas en 2 series de incubación, fueron introducidas en el rumen de los corderos durante 3, 6, 9, 12, 24, 48 y 72 horas. Después de la incubación, las bolsas fueron lavadas en agua fría en una minilavadora de turbina (3 lavados de 5 minutos), secadas en estufa a 80°C durante 48 horas y pesadas, determinándose la MS residual. El mismo proceso de lavado se aplicó a 3 bolsas adicionales de cada muestra para obtener el valor de 0 horas. La evolución en el tiempo de la desaparición de MS de las bolsas se modelizó, individualmente para cada animal, mediante regresión no lineal, según el modelo exponencial propuesto por Ørskov y Mc Donald (1979). La degradabilidad efectiva (DE) de la MS (DEMS) se estimó a partir de estas cinéticas y de la tasa de salida de partículas del rumen (*k*), determinada para el heno de alfalfa integrante de la ración, marcado con Yb, (valor medio: 3,71%/h; Alvir *et al.*, 1998 a). Los valores de DE de la fibra neutro (DEFND) y ácido detergente (DEFAD) se establecieron generando una muestra representativa del flujo post-ruminal de MS no degradada. Para ello, los residuos se mezclaron en cada cordero en

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGL 2005-01712

proporciones derivadas de la función que define el flujo postruminal acumulativo del alimento en el tiempo (González *et al.*, 2003), establecida en base a los valores de *k* y a las cinéticas de degradación de la MS. Las muestras así obtenidas fueron analizadas para FND y FAD. Los valores de DEFND y DEFAD se calcularon a partir de sus concentraciones en la muestra compuesta (X) y en el alimento (Y) y del valor de DEMS, obtenido por integración matemática: $DE = 1 - [X(1-DEMS)/Y]$ (González *et al.*, 2003). Los resultados de DE se analizaron mediante análisis de varianza según un diseño "split-plot", considerando el número de corte como efecto principal, la DE de las fracciones de fibra (FND, FAD) y su interacción con el número de corte como efectos secundarios y los corderos como boques. Así mismo, se estudió la correlación simple entre los valores de composición química, así como de estos con la DEMS, DEFND y DEFAD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química de los henos se indica en la Tabla 1. Se observa que son henos de buena calidad como indican sus contenidos (g/kg de MS) de PB (206,1, media de las dos parcelas) y FND (574,8 y 425,4 para las parcelas 1 y 2, respectivamente). Conviene señalar que el 3º corte de la parcela 1 presentó unos valores de FND y FAD marcadamente más elevados (606 y 464 g/Kg de MS, respectivamente) de lo habitual, lo que podría justificarse en base a un empacado con exceso de humedad debido a las precipitaciones indicadas en la Tabla 1. Estos elevados valores se asocian con altas concentraciones de N insoluble en solución ácido detergente (ADIN) y especialmente de N insoluble en solución neutro detergente (NDIN), de forma que una parte importante de las fracciones de FND y FAD de este heno corresponden en realidad a proteína insoluble. Otros henos afectados por lluvia de la parcela 2 también presentaron altos valores de FND y NDIN (Tabla 1).

Tabla 1. Número de corte y composición química (g/kg de MS) de los henos de alfalfa

Nº corte	Parcela 1					Parcela 2				
	1	2	3 *	4	5	1**	2	3***	4	5****
FND	484	438	606	422	440	445	393	427	387	475
FAD	359	339	464	385	418	357	319	368	372	370
LAD	88,6	70,6	101	82,5	93,8	76,6	58,8	72,0	68,8	66,7
PB	184	228	228	194	205	186	228	194	213	201
NDIN	7,77	6,09	19,0	3,88	4,79	6,87	2,83	3,97	4,67	7,08
ADIN	2,71	1,97	3,37	1,82	1,92	2,48	1,76	2,23	2,12	2,50

*Lluvias 3 litros

**Lluvias 8,1 litros

***Lluvias 9 litros

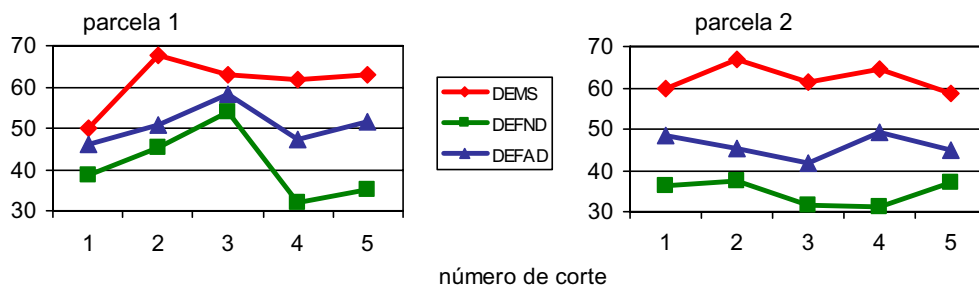
****Lluvias 13 litros

La evolución con el nº de corte de los valores de DEMS, DEFND y DEFAD se muestra en la Figura 1. Para las fracciones de fibra, estos valores variaron con el número de corte en la parcela 1 ($P < 0,001$), no apreciándose este efecto en la parcela 2. La DEFAD fue superior ($P < 0,001$, en ambas parcelas) a la DEFND en 10-11 puntos porcentuales de media. Ello indica un mayor aprovechamiento ruminal de la celulosa frente a las hemicelulosas, que puede atribuirse a la necesidad de romper las uniones entre los ácidos urónicos de la hemicelulosa y fenólicos de la lignina (Andrighetto *et al.*, 1993). Así, los trabajos de estos autores indican que, de todos los componentes de la pared celular de la alfalfa, es la celulosa la que presenta una mayor degradación. Por otra parte, los estudios de colonización microbiana realizados por Rodríguez y González (2006) han identificado a la celulosa como principal sustrato condicionante del desarrollo de colonias de microorganismos adherentes. En ambas parcelas se observaron interacciones ($P < 0,001$) entre ambos parámetros, como consecuencia del comportamiento diferencial de varios henos.

La DEMS no mostró correlación con los valores de DE de ambas fibras, que en cambio si estuvieron relacionados entre si ($r = 0,752$; $P = 0,012$). En línea con esta observación, se aprecia que mientras la DEMS se correlacionó con el contenido en PB ($r =$

0,836; $P = 0,003$) y ADIN ($r = 0,711$; $P = 0,021$), la DEFND y DEFAD presentaron la correlación más alta con el contenido en NDIN ($r = 0,849$; $P = 0,004$ y $r = 0,757$; $P = 0,011$; respectivamente), lo que no extraña considerando la elevada correlación de la concentración de NDIN con los contenidos en FND ($r = 0,961$; $P < 0,001$) y FAD ($r = 0,725$; $P = 0,018$).

Figura 1. Evolución con el número de corte de la degradabilidad efectiva de la materia seca (DEMS), fibra neutro detergente (DEFND) y fibra ácido detergente (DEFAD) del heno de alfalfa



En conjunto estos resultados indican que parte de la fibra de los henos puede corresponder a proteínas sometidas a procesos de condensación durante el henificado y la conservación del heno, que incrementan el valor de las proteínas integrantes de la pared celular (elastinas). Esta proteína puede así interferir en las estimas de la utilización ruminal de las paredes celulares, al degradarse previsiblemente a un nivel superior al de los polisacáridos estructurales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrighetto, I., Bailoni, L., Cozzi, G., Tolosa, H.F. 1992. Observations on in situ degradation of forage cell components in alfalfa and italian ryegrass. *J. Dairy Sci.* 76:2624-2631.
- Alvir, M.R., Paniagua, E., González, J. 1998 a. Efecto del número de corte sobre la degradabilidad ruminal de la materia seca del heno de alfalfa. XXXVIII Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. S.E.E.P. 257-263.
- Alvir, M.R., Paniagua, E., González, J., 1998 b. Evolución anual de la degradabilidad ruminal de la materia seca del heno de alfalfa según el número de corte. *Producción ovina y caprina.* S.E.O.C. XXIII: 77-81.
- Alvir, M.R., Faria-Mármol, J., Paniagua, E., Rodríguez, C. A., González J. 1999. Efecto del número de corte sobre la degradabilidad ruminal de la proteína bruta de los henos de alfalfa. *ITEA.* Vol. Extra, N° 20. Tomo II. 508-510.
- González, J., Faria-Mármol, J., Matesanz, B., Rodríguez, C. A., Alvir, M. R. 2003. In situ intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 43: 29-40.
- Ørskov, E. R., McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of pasaje. *J. Agric. Sci. Camb.*,92: 499-503.
- Rodríguez, C. A., González, J. 2006. In situ study of the relevance of bacterial adherence to feed particles on the contamination and accuracy of rumen degradability estimates of feeds of vegetable origin. *Br. J. Nutr.* 96:316-325.

EFECTOS DE LA TASA DE CONMINUCIÓN DE PARTÍCULAS Y DE SU CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN EL RUMEN SOBRE LA VALORACIÓN *IN SITU* DE UN HENO DE RAY-GRASS ITALIANO*

González, J., Arroyo, J. M^a., Alvir, M. R., Rodríguez, C. A., Ouarti, M
Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica. 28040 Madrid.
Email: javier.gonzalez@upm.es

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de racionamiento nitrogenado de rumiantes precisan de estimas efectivas a la vez rápidas y precisas de la degradabilidad ruminal (DE) y la digestibilidad intestinal (DIE) de la proteína de los alimentos. Los métodos *in situ* de degradación-transito mas comúnmente empleados no reúnen estas características, al no corregir la contaminación microbiana ocurrida en el rumen y no considerar los procesos de atrapamiento de partículas en éste. González *et al.* (2003, 2005) han propuesto un método basado en la generación, a partir de los residuos de incubación ruminal, de una muestra representativa del flujo post-ruminal de alimento, que permite estimar la DE y la DIE de forma mucho mas rápida y cómoda que los métodos usuales de integración matemática. Además, este método facilita la corrección microbiana, es aplicable simultáneamente a múltiples nutrientes y se adapta a modelos completos de transito de partículas. En este trabajo se ha utilizado un heno de ray-grass italiano (HRG) para mostrar los efectos simultáneos de la contaminación microbiana y del atrapamiento de partículas en el rumen sobre su valoración nutritiva *in situ*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron tres corderos adultos fistulizados en rumen y duodeno, alimentados con una dieta de HRG (40%) y concentrado (60%), distribuida a 75 g/kg P^{0,75}, en seis comidas / día.

La dinámica de partículas en el rumen – incluyendo sus tasas de conminución (k_c) y salida (k_p) - se estudió mediante el ajuste (Grovmum y Williams, 1973) de la evolución, durante 82 h, de la concentración de europio (Eu) en 22 muestras de digesta duodenal, tomadas tras una dosis simple de HRG marcado (10 mg de Eu/g de alimento).

La degradación ruminal se estudió en 2 incubaciones, a tiempos de 3, 6, 12, 24, 48 y 72 h, utilizando muestras duplicadas (3 g; molidas a 2 mm), contenidas en bolsas de nylon (dimensiones internas: 7 x 11 cm; 46 μ m de poro). De forma previa y durante estos estudios se infundió en el rumen una sal de ¹⁵N, aislándose, al final del período experimental, una muestra de bacterias adherentes para corregir la contaminación microbiana de los residuos. Las bolsas, tras extraerse del rumen, fueron someramente lavadas con agua corriente y almacenadas a -20 °C. Tras su descongelación, se lavaron en una mini-lavadora de turbina (3 x 5 min.). Este proceso de lavado también se utilizó para establecer el valor a 0 h. Una de las réplicas se liofilizo y la otra se desecó en estufa a 80 °C durante 48 h, analizándose para MS y N. La evolución de la desaparición aparente de MS y PB se ajustó en cada animal a un modelo exponencial (Ørskov y McDonald, 1979). Los valores de DE se determinaron por integración matemática en base a considerar bien, k_p , bien simultáneamente k_c y k_p (González *et al.*, 2006). A partir de estas tasas y de las cinéticas de degradación de la MS, se establecieron en cada cordero las funciones que definen el flujo post-ruminal acumulativo en el tiempo de alimento no degradado (González *et al.*, 2003), mezclándose en base a ellas las muestras liofilizadas para generar las muestras representativas de este flujo. Las muestras así obtenidas fueron analizadas para MS, N y ¹⁵N. Los valores de DE de la PB (aparentes y reales) y de la FND y FAD se calcularon a partir de sus concentraciones en la

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGL 2005-01712.

muestra compuesta (X) y en el alimento (Y) y del valor de DE de la MS, obtenido por integración matemática: $DE = 1 - [X (1-DEMS)/Y]$ (González *et al.*, 2005).

Los valores de DIE de la PB se determinaron en estas muestras compuestas con la técnica de micro- bolsas móviles (mismo material; $\varnothing = 2,2$ cm), utilizándose 8 replicas (200 mg) por cordero y modelo de tránsito. Las bolsas se introdujeron por la cánula duodenal y se recuperaron en las heces, procesándose en la forma ya indicada. Los residuos de incubación se mezclaron para cada cordero previamente a su análisis de N y ^{15}N . La PB digerida en el intestino fue calculada como la cantidad desaparecida de la bolsa dividida por la cantidad presente inicialmente en ésta. Estos valores, al igual que los de DE, fueron corregidos a partir de la contaminación microbiana producida en el rumen.

Se aplicaron análisis de varianza con un diseño en bloques, al estudiar el efecto de k_c , o split-plot, al estudiar el efecto de k_c (factor principal: contrastado frente a la interacción k_c x animal) y de la contaminación microbiana, conjuntamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El HRG se cosecho al sol con buen tiempo, pero en un avanzado estado de madurez (pleno espigado), como muestran los contenidos (g/kg de MS) de PB (63,5), FND (584), FAD (351) y LAD (39,8). Sus valores de k_c y k_p (%/h) fueron $6,09 \pm 1,12$ y $8,92 \pm 2,46$ (media \pm desviación típica), respectivamente. Así, el considerar el atrapamiento de partículas en el rumen añade, como media, 11,2 h al tiempo medio de permanencia definido por la salida de partículas de éste compartimento (16,4 h). El tiempo de permanencia resultante (27,6 h) es mas realista que el obtenido considerando únicamente k_p , el cual, por otra parte, no difiere del determinado simultáneamente para una harina de girasol (16,1 h), que presento un tiempo medio de atrapamiento de solo 1,73 h (datos no publicados), concordante con la mayor densidad y menor tamaño de sus partículas. En consecuencia, los valores de DE obtenidos para cualquier fracción son ampliamente superiores al considerar k_c (Tabla 1), aunque este efecto no se apreció para la PB utilizando la muestra compuesta, debido a la alta variabilidad registrada. Los valores aparentes obtenidos por integración matemática para la DE de la PB fueron, por otra parte, similares a los correspondientes a la generación de una muestra compuesta: 42,2 vs 41,3%, usando k_p , y 51,4 vs 50,3%, usando k_c y k_p (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la tasa de conminución (k_c) en adición a la tasa de salida de partículas del rumen (k_p) sobre las estimas de degradabilidad efectiva (%) y de contaminación microbiana del heno de ray-grass italiano.

Item	k_p	k_c-k_p	ESM	P
<u>Degradabilidad efectiva (%)</u>				
MS (IM)	50,2	58,5	0,57	0,009
PB ¹				
- IM	42,2	51,4	0,68	0,011
- MC	41,3	50,3	2,71	0,145
FND (MC)	29,3	40,8	0,73	0,008
FAD (MC)	27,0	38,9	0,73	0,007
<u>Contaminación microbiana de la fracción no degradada (%)</u>				
MS (MC)	6,92	10,8	0,62	0,048
PB (MC)	46,3	70,6	1,95	0,013

¹Comparación métodos: ESM = 0,67; P = 0,437 y ESM = 1,54; P = 0,676, usando k_p y k_c-k_p , respectivamente. IM: integración matemática; MC: muestra compuesta.

La contaminación microbiana de la fracción no degradada fue muy elevada en este heno (Tabla 1), en consonancia con su elevado contenido en fibra y mas especialmente en

celulosa (Rodríguez y González, 2006). Además, dado su carácter acumulativo en el tiempo y la progresión de la degradación, el valor de esta contaminación aumenta marcadamente al considerar k_c ($P < 0,001$), especialmente para la PB, en que llega a superar el 70 % de la estima de PB no degradada. El no corregir la contaminación implica sobrevaloraciones importantes (Tabla 2; $P < 0,001$), tanto de la fracción de PB no degradada, como de su digestibilidad intestinal y, en consecuencia, de la PB digerida en el intestino. La no consideración de k_c implica también una importante sobrevaloración de todos estos parámetros (Tabla 2). La sobrevaloración conjunta asociada a no considerar ambos factores representa 310, 108 y 861%, respectivamente. Andrieu *et al.* (1987) indican, para un heno de composición similar, una digestibilidad de la MO del 60%, casi idéntica al valor *in situ* real obtenido en este experimento (61%), pero muy superior al valor aparente obtenido en función de k_p (54%; datos no publicados). Los valores de DE de FND y FAD obtenidos en base a k_p son así mismo bajos para este tipo de heno. En consecuencia, los resultados evidencian la necesidad de controlar ambos factores para una adecuada valoración *in situ* de los forrajes, especialmente en términos proteicos, siendo el método utilizado muy apto para este fin.

Tabla 2. Efecto de la tasa de conminución (k_c) en adición a la tasa de salida de partículas del rumen (k_p) y de la contaminación microbiana sobre las estimas del aprovechamiento intestinal de la PB

Item	k_p		k_c-k_p		Modelo de tránsito		Contaminación microbiana	
	Ap.	corr.	ap.	corr.	ESM	P	ESM	P
PBND (% PB total)	58,7	31,6	49,7	14,3	1,33	0,026	1,53	<0,001
DIEPB ¹ (%)	63,6	49,4	59,8	30,6	0,45	0,003	0,93	<0,001
PBDI (% PB total)	37,3	15,6	29,7	4,33	0,82	0,015	0,49	<0,001

¹Interacción significativa: ESM = 1,31; $P = 0,005$. ap.: aparente; corr.: corregido; PBND: PB no degradada; DIEPB: digestibilidad intestinal efectiva de la PB; PBDI: PB digerida en el intestino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrieu, J., Demarquilly, C., Sauvant, D., 1989. Tables of feeds used in France. En: Jarrige R. (Ed), Ruminant Nutrition: Recommended Allowances and Feed Tables, INRA, pp 213-303.
- González J., Ouarti M., Alvir M.R., Rodríguez C.A., 2005. Propuesta de un método *in situ* simplificado para la evaluación proteica de los alimentos en rumiantes. ITEA Vol. Extra 25, 581-583.
- González, J., Ouarti, M., Rodríguez, C.A., M.R. Alvir. 2006. Effects of considering the rate of comminution of particles and microbial contamination on the accuracy of *in situ* studies of feed protein degradability in ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 125, 89-98.
- González J., Fariá-Mármol J., Matesanz B., Rodríguez C.A., Alvir M.R., 2003. *In situ* intestinal digestibility of dry matter and crude protein of cereal grains and rapeseed in sheep, Reprod. Nutr. Dev. 43, 29-40.
- Grovum, W.L., Williams, V.J., 1973. Rate of passage of digesta in sheep. 4. Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate-constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. Br. J. Nutr. 30, 313-329.
- Ørskov E.R., McDonald I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci. Camb. 92, 499-503.
- Rodríguez C.A., González J., 2006. *In situ* study of the relevance of bacterial adherence to feed particles on the contamination and accuracy of rumen degradability estimates of feeds of vegetable origin. Br. J. Nutr. 96, 316-325.

EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO DE ACEITES ESENCIALES SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL

Castillejos, L. ¹, Calsamiglia, S. ¹, Martín-Tereso, J. ², ter Wijlen, H. ²

¹Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra. Email: lcastillejos@diamondv.com

²Nutreco Ruminant Research, 5830AE Boxmeer, Holanda.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son combinaciones de metabolitos secundarios vegetales que se obtienen al destilar plantas y especias. Muchos de estos aceites han demostrado ser eficaces en la inhibición de microorganismos (Dorman y Deans, 2000), lo que justifica sus aplicaciones en medicina tradicional y como conservantes de alimentos. Por estas propiedades, los aceites esenciales están siendo considerados como una de las posibles alternativas naturales a los antibióticos promotores del crecimiento, tras la prohibición de su uso para alimentación animal en la Unión Europea a principios del 2006.

Aunque existen pocos estudios sobre los aceites esenciales como moduladores de la fermentación ruminal (Oh *et al.*, 1967; 1968), recientemente se han publicado numerosos trabajos de investigación sobre los efectos de los aceites esenciales y sus principios activos (Busquet *et al.*, 2006; Cardozo *et al.*, 2005; Castillejos *et al.*, 2006). La composición en principios activos de los aceites esenciales es muy variable, cualitativa y cuantitativamente según las especies y variedades vegetales, las condiciones de cultivo y el proceso de extracción. Esta amplia heterogeneidad hace que evaluar el efecto de los aceites esenciales resulte realmente complejo (Calsamiglia *et al.*, 2006).

El objetivo de este estudio fue evaluar in vitro el efecto de diez aceites esenciales sobre la fermentación microbiana ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los efectos de diez aceites esenciales se evaluaron en una incubación de líquido ruminal de 24 h (Tilley & Terry, 1963). Como sustrato se utilizó una ración formulada emulando una dieta de vacuno de cebo, 10:90 forraje:concentrado (16.1% PB; 32.1% FND; 16.8% FAD). Los tratamientos fueron: un control negativo (CTR), un control positivo (MON, 10 mg/L de monensina), y aceites de Ajedrea (*Satureja montana*), Árbol de té (*Melaleuca alternifolia*), Clavo (*Eugenia caryophyllus*), Hisopo (*Hyssopus officinalis*), Lavanda (*Lavanda officinalis*), Lavandín (*Lavanda hybrida*), Orégano (*Origanum vulgare*), Romero (*Rosmarinus officinalis*), Salvia (*Salvia officinalis*) y Tomillo (*Thymus vulgaris*). Los aceites se evaluaron en 3 dosis (5, 50, 500 mg/L). Tres vacas con cánula ruminal del Centro Experimental de Rumiantes de Nutreco (Holanda), fueron utilizadas para obtener líquido ruminal. Los animales consumían una ración base de silo de maíz y silo de hierba suplementada con pienso compuesto (aprox. 40%). Se incubaron a 39°C porciones de 0,5 g de ración en 50 mL de líquido ruminal tamponado con una solución bicarbonato-fosfato (McDougall, 1948) y ajustado a pH 6.5. Después de 24 h se midió el pH y se recogieron muestras para analizar la concentración de N amoniacal y ácidos grasos volátiles (AGV). Los tratamientos se evaluaron por triplicado y las fermentaciones se replicaron en dos días diferentes.

Los resultados del experimento se analizaron como un diseño de bloques al azar utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (1996). El día se consideró como efecto bloque. Las diferencias entre los tratamientos y el CTR se determinaron usando el test de comparación múltiple de Dunnett ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El criterio de evaluación fue la mejora de las eficiencias energética y proteica, según el incremento de la concentración de AGV totales y la proporción de propiónico respecto a acético, y la reducción de la concentración de nitrógeno amoniacal. El efecto de los aceites esenciales sobre la fermentación ruminal dependió de la dosis. Se comentarán los resultados significativos ($P < 0,05$) en relación al tratamiento CTR. Los resultados de los aceites de Orégano y Clavo se presentan en las Tablas 1 y 2 a modo de ejemplo.

La monensina, como control positivo, incrementó en todas las incubaciones la proporción de propionato y disminuyó la relación acetato:propionato, en coherencia con estudios previos (Russell y Strobel, 1989). La monensina también incrementó la concentración total de ácidos grasos volátiles (AGV) (entre 14 y 43%), la proporción de valerato, y el pH ruminal (entre 0,17 y 0,19), y además redujo el N amoniacal (entre 15 y 29%) y la proporción de acetato y butirato.

Las tres dosis de aceite de Tomillo incrementaron la concentración total de AGV (entre 36 y 47%) y disminuyeron la concentración de N amoniacal (entre 11 y 17%), aunque también redujeron el pH final de la fermentación (entre 0,12 y 0,16).

Todas las dosis de aceite de Ajedrea redujeron la concentración de N amoniacal (entre 18 y 30%). Sin embargo, también redujeron el pH ruminal después de 24 horas de incubación (entre 0,11 y 0,27) y aumentaron la proporción de acetato. Únicamente, las dosis 5 y 50 de Ajedrea incrementaron la concentración de AGV totales (35 y 25% respectivamente), aunque en menor proporción que la monensina y el aceite de tomillo. El aceite de Ajedrea a 500 mg/L no incrementó significativamente la concentración de AGV totales, pero sí incrementó la proporción de acetato y de propionato, y disminuyó la proporción de butirato.

Ninguna de las tres dosis del aceite de Lavanda modificó el pH, el N amoniacal, ni la concentración total de AGV. Únicamente la dosis 50 tendió a incrementar ($P < 0,10$) la proporción de acetato y la dosis 500 disminuyó la proporción de butirato.

El aceite de Lavandín a 50 mg/L incrementó la proporción de acetato y disminuyó la proporción de butirato. Por el contrario, la dosis 500 incrementó la proporción de propionato, y también disminuyó la proporción de butirato. Sin embargo, todas las dosis de Lavandín disminuyeron la concentración de AGV ramificados (entre 27 y 29 %) y la concentración total de AGV totales (entre 26 y 27 %).

El aceite de Romero no modificó el pH ruminal, el N amoniacal, ni la concentración total de AGV. Sin embargo, la dosis 500 incrementó la proporción de propionato y valerato, y redujo la proporción de acetato y butirato, y la relación acetato:propionato, además tendió a reducir ($P < 0,10$) la concentración de AGV ramificados (18%).

El aceite de Hisopo tampoco modificó el pH ruminal, el N amoniacal, ni la concentración total de AGV. Al igual que el aceite de Romero, la dosis 500 incrementó la proporción de propionato, y redujo la proporción de acetato y butirato, reduciendo la relación acetato:propionato.

El aceite de Salvia a 5 mg/L tendió a incrementar ($P < 0,10$) el pH ruminal (0,04) y la dosis 50 incrementó la concentración de N amoniacal (18%). De nuevo, la dosis 500 incrementó la proporción de propionato y valerato, y redujo la proporción de acetato y de butirato, reduciendo la relación acetato:propionato.

Tabla 1. Efecto del aceite de Orégano sobre el pH, el N amoniacal y el perfil de AGV

	Tratamientos					
	CTR	5	50	500	MON	EE
pH	5,71	5,69	5,70	6,08*	5,88*	0,01
NH ₃ , mg/100ml	45,6	49,1	48,8	29,6*	36,7*	2,12
AGV Totales, mM	122,6	170,2*	191,1*	101,2*	139,4 [†]	7,18
Ramificados, mM	2,37	2,37	2,40	2,14*	2,45 [†]	0,03
AGV, mol/100mol						
Acetato	60,3	60,2	60,1	61,5*	54,8*	0,17
Propionato	20,4	20,3	20,5	15,5*	28,7*	0,18
Butirato	15,0	15,1	15,0	18,5*	11,4*	0,16
Valerato	1,95	1,97	2,00	2,38*	2,66*	0,03
Acetato:Propionato	2,96	2,96	2,93	3,98*	1,91*	0,03

* Medias con diferencias significativas ($P < 0,05$)

[†] Medias con diferencias significativas ($P < 0,10$)

El aceite de Árbol de té a 500 mg/L, incrementó la proporción de propionato y valerato, y redujo la proporción de acetato y butirato, reduciendo la relación acetato:propionato.

Las dosis 5 y 50 de aceite de Orégano incrementaron la concentración de AGV totales (39 y 56 %, respectivamente). Sin embargo, a 500 mg/L inhibió la fermentación ruminal disminuyendo la concentración total de AGV (18%), de N amoniacal (35%) y de AGV ramificados (10%), y la proporción de propionato, e incrementando el pH ruminal (0,37), la proporción de acetato, de butirato y de valerato y la relación acetato:propionato.

Las tres dosis de aceite de Clavo incrementaron la concentración total de AGV (entre 33 y 52%), y la dosis 50 incrementó la concentración de N amoniacal (7%). Sin embargo, de nuevo, la dosis 500 fue la óptima para este aceite esencial. A 500 mg/L el aceite de Clavo incrementó la proporción de propionato y valerato, y redujo la proporción de acetato y butirato, la relación acetato:propionato y la concentración de AGV ramificados (3%).

Tabla 2. Efecto del aceite de Clavo sobre el pH, la concentración de N amoniacal y el perfil de AGV

	Tratamientos					
	CTR	5	50	500	MON	EE
pH	5,71	5,69	5,70	5,87*	5,88*	0,01
NH ₃ , mg/100ml	45,6	44,9	48,5*	44,1	36,7*	1,07
AGV Totales, mM	122,6	162,8*	186,7*	174,7*	139,4	10,5
Ramificados, mM	2,37	2,39	2,37	2,29*	2,45*	0,02
AGV, mol/100mol						
Acetato	60,3	60,3	60,3	59,4*	54,8*	0,15
Propionato	20,4	20,4	20,5	22,6*	28,7*	0,18
Butirato	15,0	15,0	14,9	13,4*	11,4*	0,14
Valerato	1,95	1,97	1,97	2,40*	2,66*	0,03
Acetato:Propionato	2,96	2,96	2,95	2,63*	1,91*	0,02

* Medias con diferencias significativas (P < 0,05)

CONCLUSIONES

La mayoría de estos aceites esenciales afectó positivamente a la fermentación ruminal excepto el aceite de Lavanda que no la modificó, y el aceite de Lavandín y la dosis 500 del aceite de Orégano que la inhibieron. Sin embargo, la dosis 5 y 50 del aceite de Orégano incrementaron la concentración de AGV totales. El aceite de Tomillo incrementó la concentración de AGV totales y disminuyó la concentración de N amoniacal, aunque disminuyó el pH ruminal. El aceite de Ajedrea también incrementó la concentración de AGV totales y disminuyó la concentración de N amoniacal, aunque incrementó la proporción de acetato y también disminuyó el pH ruminal. La dosis 500 del aceite de Árbol de té, Clavo, Hisopo, Romero y Salvia disminuyeron la relación acetato:propionato. La dosis 500 de aceite de Clavo fue la única que incrementó el pH ruminal sin reducir la concentración de AGV. La mayoría de las muestras de aceites esenciales evaluadas bajo estas condiciones in vitro estimuló la fermentación ruminal, mejorando la eficacia energética y proteica de la fermentación ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, C. Kamel. 2006. *J. Dairy Sci.* 89:761-771.
 Cardozo, P., S. Calsamiglia, A. Ferret, C. Kamel. 2005. *J. Anim. Sci.* 83:2572-2579.
 Calsamiglia, S., L. Castillejos, M. Busquet. 2006. Nottingham, UK.
 Castillejos, L., S. Calsamiglia, A. Ferret. 2006. *J. Dairy Sci.* 89:2649-2658.
 Dormans, H. J. D., S. G. Deans. 2000. *J. Appl. Microbiol.* 88:308-316.
 McDougall, E. I. 1948. *Biochem. J.* 43:99-109.
 Oh, H. K., T. Sakai, M. B. Jones, W. M. Longhurst. 1967. *Appl. Microbiol.* 15:777-784.
 Oh, H. K., M. B. Jones, W. M. Longhurst. 1968. *Appl. Microbiol.* 16:39-44.
 Russell, J. B., H. J., Strobel. 1989. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:1-6.
 Tilley, J. M. A., R. A., Terry. 1963. *J. Brit. Grassland Soc.* 18:104-111.

EFFECTO DE DIFERENTES INÓCULOS RUMINALES DE VACUNO LECHERO EN LA REPRODUCIBILIDAD DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* (DAISY[®]) DE LA MATERIA SECA Y LA FIBRA NEUTRO DETERGENTE *

Arriaga, H. ¹; Zanfi, C. ²; Merino, P. ¹; Calsamiglia, S. ³; Spanghero, M. ²

¹Dpto. Agroecosistemas y Recursos Naturales, NEIKER-Tecnalia, 48160 Derio (Bizkaia) (harriaga@neiker.net)

²Dpto. Scienze Animali, Università degli Studi di Udine, 33010 Pagnacco (Italia)

³Dpto. Ciencia Animal y de los Alimentos, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Las características del líquido ruminal se consideran como una de las principales fuentes de variación en la fermentación *in vitro* de los ingredientes (Hervás *et al.*, 2005). Actualmente, la cada vez más estricta legislación sobre animales de experimentación (RD 1201/2005) supone un problema al acceso del líquido ruminal en condiciones controladas y un aumento de la distancia entre el ganado fistulado y el laboratorio analítico (Robinson *et al.*, 1999). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la reproducibilidad de la digestibilidad de la materia seca (dMS) y la digestibilidad de la FND (dFND) *in vitro* (Daisy[®]) en cuatro ingredientes habituales en raciones de vacuno lechero tras incubaciones de 30 y 48 horas al variar la naturaleza del inóculo ruminal y el tiempo transcurrido entre la toma del inóculo y el inicio de la incubación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cuatro ingredientes habituales de raciones de vacuno lechero en Friuli (noreste de Italia) fueron seleccionados para la determinación de la reproducibilidad de la dMS y de la dFND. Las incubaciones se realizaron con un ensilado de maíz, una alfalfa henificada, un heno de hierba y una pulpa de remolacha pelletizada. Este proceso se repitió durante 5 semanas entre los meses de junio y agosto de 2006. Las muestras del inóculo ruminal fueron tomadas del ganado vacuno lechero (razas Holstein y Pezzata Rossa italiana) recién sacrificado en el matadero. El líquido extraído de tres rúmenes fue filtrado, homogeneizado e introducido hasta un volumen final de 2 l. en una botella mantenida en condiciones anaeróbicas. Este inóculo de líquido ruminal fue transportado en condiciones anaeróbicas y a 39°C hasta el laboratorio. Previamente, 0,25 g de cada alimento fue pesado por triplicado en bolsas F57 (Ankom Technology) y la solución tampón estándar fue atemperada durante una hora a 39°C. Todas las incubaciones de los alimentos se realizaron por duplicado (2 botellas) durante 30 y 48 horas, de modo que durante 5 ensayos se determinó la reproducibilidad de la dMS y dFND. Además, durante los 3 primeros ensayos 2 de las botellas fueron incubadas justo tras la llegada del líquido ruminal al laboratorio (0 horas) en tanto que las otras 2 botellas fueron incubadas 4 horas después de la llegada al laboratorio. En los dos últimos ensayos, 2 botellas fueron incubadas a pH de ensayo en tanto que las otras 2 botellas fueron fijadas a pH 7. Una muestra del líquido ruminal original y de la solución líquido ruminal-solución tampón fueron tomadas previamente a la incubación para determinar el pH. Igualmente se determinó el pH de la solución a 30 y 48 horas de incubación. Tras las incubaciones, las bolsas fueron extraídas de las botellas, lavadas con abundante agua y secadas durante 24 h a 105°C para la determinación de la dMS. Una vez determinada la dMS, las bolsas fueron introducidas en el analizador de fibras (ANKOM Technology) para la determinación de FND y posterior cálculo de la dFND. Debido a un problema surgido en la preparación de la solución neutro detergente durante el ensayo 3, las analíticas de FND de este ensayo no fueron considerados en el presente estudio.

* Trabajo financiado por la Acción Integrada España-Italia (HI2004-0313).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de la dMS a 30 y 48 horas de incubación correspondientes a 5 muestreos se muestran en la Tabla 1. El coeficiente de variación (CV) de la dMS entre ensayos presentó valores inferiores al 10% (máximo de 6,5%) para todos los ingredientes estudiados en 30 y 48 horas de incubación. El aumento de la dMS entre las 30 y 48 horas de incubación fue significativo en todos los ingredientes ($p < 0,05$), oscilando esta variación entre un 10% del ensilado de maíz y un 16,4 de la pulpa de remolacha. Los resultados medios de la dFND a 30 y 48 horas de incubación correspondientes a 4 muestreos se muestran en la Tabla 2. El CV (%) de la dFND, al contrario que dMS, presentó un significativo efecto del tipo de ingrediente ($p < 0,05$) al observarse valores de entorno al 7% en la alfalfa henificada y valores entorno al 25% para el ensilado de maíz. El aumento de la dFND entre las 30 y 48 horas de incubación fue superior a la dMS, oscilando entre un 19,8% para la alfalfa y un 30,2% para el ensilado de maíz.

Tabla 1 y Tabla 2. Reproducibilidad de la dMS y dFND a 30 y 48 horas de incubación en 4 ingredientes habituales en raciones de vacuno lechero.

Tiempo (h)	Muestra	dMS (%)	Desv. Est	CV(%)
30h	Alfalfa	47.2	2.0	4.3
	Heno	52.1	2.4	4.6
	Silo	54.4	2.1	3.8
	Pulpa	60.1	3.9	6.5
48h	Alfalfa	52.5	2.2	4.2
	Heno	59.7	3.1	5.1
	Silo	60.5	3.6	6.0
	Pulpa	71.9	3.8	5.3

Tiempo (h)	Muestra	dFND (%)	Desv. Est	CV(%)
30h	Alfalfa	25.7	1.7	6.8
	Heno	34.7	6.3	18.3
	Silo	26.0	7.3	28.0
	Pulpa	47.5	8.9	18.7
48h	Alfalfa	32.0	2.7	8.6
	Heno	46.7	3.6	7.8
	Silo	37.3	7.8	21.0
	Pulpa	65.1	5.3	8.1

El efecto del tiempo transcurrido entre el inicio de una primera incubación (0 horas) y una posterior incubación (4 horas) sobre la dMS se muestra en la Tabla 3 y Tabla 4. El CV (%) dentro de cada tiempo de incubación (30 o 48 horas) no difirió en un porcentaje superior al 10% al iniciar la incubación a la hora 0 o al iniciar la incubación 4 horas después. Sin embargo, el aumento de dMS fue superior entre las 30 y las 48 horas de incubación en aquellas botellas incubadas 4 horas después del inicio de las primeras incubaciones ($p < 0,05$), con un incremento sobre éstas primeras del 10,0%, 7,2%, 9,7% y 8,1% para la alfalfa henificada, el heno de hierba, el silo de maíz y la pulpa de remolacha, respectivamente. La alfalfa henificada fue el único ingrediente que mostró significación estadística con el cambio del tiempo de incubación de 0 horas a 4 horas ($p < 0,05$), disminuyendo la dMS en las 30 primeras horas al incubarlos con 4 horas de retraso y aumentándolo entre las 30 y 48 horas de incubación. En relación al efecto del tiempo transcurrido entre el inicio de una primera incubación (0 horas) y una posterior incubación (4 horas) sobre la dFND, éstas se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6. El CV (%) no mostró relación alguna a la disminución según los alimentos fueron incubados en la primera incubación (0 horas) o incubados 4 horas después. Así, al contrario de lo observado para la dMS, la dFND no aumentó en las botellas incubadas 4 horas después de la incubación inicial a partir de la hora 30 de incubación. Debido a la variabilidad de los resultados no se hallaron diferencias significativas entre la dFND y los tiempos de inicio de incubación ($p > 0,05$). El pH inicial de los distintos inóculos ruminales osciló entre un pH mínimo 5,86 y máximo de 6,23 en tanto que el pH de la solución tampón y el líquido ruminal osciló entre un pH mínimo de 6,26 y máximo de 7,0 (fijado en los ensayos 4 y 5). La variabilidad observada para la dMS y para la dFND no pudo asociarse significativamente al pH del líquido ruminal o al pH de la solución tampón y el líquido ruminal ($p > 0,05$).

Tabla 3 y Tabla 4. Reproducibilidad de dMS a 30 y 48 horas de incubación e incubados a tiempo 0 horas y 4 horas después de la primera incubación.

Inicio (h)	Tiempo (h)	Muestra	dMS (%)	Desv. Est	CV(%)
0h	30h	Alfalfa	47.8	1.7	3.6
		Heno	51.9	2.3	4.5
		Silo	54.0	1.9	3.5
		Pulpa	61.9	2.4	3.9
4h	30h	Alfalfa	44.7	2.5	5.6
		Heno	50.3	4.6	9.1
		Silo	51.6	5.1	9.9
		Pulpa	60.4	6.4	10.6

Inicio (h)	Tiempo (h)	Muestra	dMS (%)	Desv. Est	CV(%)
0h	48h	Alfalfa	51.5	1.7	3.3
		Heno	58.0	4.0	6.9
		Silo	58.1	4.2	7.3
		Pulpa	69.8	4.4	6.2
4h	48h	Alfalfa	54.0	2.2	4.1
		Heno	61.2	3.4	5.6
		Silo	61.9	4.5	7.3
		Pulpa	75.0	5.5	7.3

Tabla 5 y Tabla 6. Reproducibilidad de la dFND a 30 y 48 horas de incubación e incubados a tiempo 0 horas y 4 horas después de la primera incubación.

Inicio (h)	Tiempo (h)	Muestra	dFND (%)	Desv. Est	CV(%)
0h	30h	Alfalfa	25.1	2.1	8.2
		Heno	34.9	4.6	13.2
		Silo	25.5	6.9	26.9
		Pulpa	49.5	7.7	15.6
4h	30h	Alfalfa	27.8	1.0	3.5
		Heno	35.8	6.5	18.3
		Silo	24.8	10.7	43.1
		Pulpa	57.0	7.7	13.5

Inicio (h)	Tiempo (h)	Muestra	dFND (%)	Desv. Est	CV(%)
0h	48h	Alfalfa	32.5	4.2	13.0
		Heno	44.7	4.1	9.2
		Silo	32.7	10.2	31.2
		Pulpa	64.8	6.6	10.3
4h	48h	Alfalfa	34.6	1.6	4.7
		Heno	44.7	8.0	17.9
		Silo	37.9	8.2	21.7
		Pulpa	71.5	2.3	3.2

Como conclusión, la dMS mostró una mejor reproducibilidad que la dFND en los 4 ingredientes incubados con diferentes inóculos de líquido ruminal, mostrando la dFND una distinta respuesta a la reproducibilidad en función del tipo de ingrediente. Incubaciones de 30h frente a 48h reducen en mayor proporción el resultado de la dFND en relación a la dMS. La dMS y la dFND no mostraron respuesta significativa uniforme al inicio de la incubación a 0 horas o a 4 horas tras la llegada al laboratorio en condiciones anaeróbicas y a 39°C.

BIBLIOGRAFIA

Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F.J., Mora, M.J., Fernández, B., Mantecón, A.R. 2005. Effect of preservation on fermentative activity of rumen fluid inoculum for in vitro gas production techniques. *Animal Feed Science and Technology* 123-124 :107-118 • Robinson, P.H., Campbell, M., Fadel, J.G. 1999. Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Animal Feed Science and Technology* 80 :257-266.

ESTUDIO COMPARATIVO *IN VITRO* DE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA DE LA CABRA MONTÉS

de la Fuente, G., Belanche, A. y Fondevila, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. E-mail: mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La cabra montés (*Capra pyrenaica*) es una especie protegida que habita en las zonas montañosas españolas. De las dos subespecies existentes, la *C. pyrenaica hispanica* está presente en los Pirineos y en el Sistema Ibérico. No existen apenas estudios acerca de sus particularidades en cuanto a fisiología y microbiología digestivas, más allá de lo que se conoce en otras especies similares. Entre ellas, por proximidad genética, tamaño y, probablemente hábitos alimenticios, la cabra doméstica (*Capra hircus*) puede ser un referente adecuado.

La alimentación de especies exóticas de ruminantes es un campo difícil de explorar, dado que su comportamiento alimentario varía de unas especies a otras y, dentro de la misma especie, en función del ambiente y de la disponibilidad de alimentos. Según Hofmann (1989) la cabra doméstica se encuentra dentro del rango de alimentadores intermedios, se alimenta de frutos y ramón, pero los productos pastables son también importantes en su dieta. La cabra montés parece tener un comportamiento más selectivo en cuanto a hojas y frutos, alimentándose presumiblemente de material más digestible, y por tanto más rápidamente fermentable, aunque este comportamiento se puede flexibilizar según la disponibilidad estacional de recursos, pudiendo ser más ramoneadora en épocas en las que el sustrato herbáceo sea más escaso, buscando un balance de nutrientes más óptimo dentro de un volumen total de alimento (Westoby 1974).

La cabra montés presenta un dimorfismo sexual muy acusado, pudiendo los machos alcanzar el doble de peso que las hembras. El comportamiento de ambos sexos varía también a lo largo del año según la época de celo, con lo que es previsible que la estrategia de alimentación sea diferente entre machos y hembras (Martínez *et al.*, 1985).

El objetivo de este trabajo es estudiar la magnitud y dinámica de la fermentación ruminal de la cabra montés en términos de producción de gas *in vitro* frente a varios polisacáridos como sustrato. Como referencia, se comparan los resultados con muestras obtenidas de individuos de cabra doméstica alimentados en condiciones extensivas y pertenecientes a la misma zona geográfica, para minimizar en lo posible el efecto ambiental de disponibilidad de alimentos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras analizadas corresponden a líquido ruminal procedente de 18 animales, 15 individuos de cabra montés viviendo en libertad y 3 de cabra doméstica, localizados en términos municipales del Maestrazgo turolense. Los ejemplares de cabra montés fueron abatidos por cazadores deportivos bajo la supervisión del servicio de protección de la naturaleza de la Diputación General de Aragón, y distribuidos en grupos atendiendo a su sexo y edad: machos adultos (n = 4), hembras adultas (n = 7) y animales jóvenes menores de 2 años (n = 4). Los tres ejemplares de cabra doméstica fueron hembras mayores de 2 años de edad. En todos los casos, la toma de muestras se realizó como máximo una hora después del sacrificio de los animales. Una vez filtrado el contenido ruminal por doble capa de gasa, se determinó el pH del líquido y se tomó una muestra que se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido para su conservación.

Se realizaron dos tandas de incubación en tubos de Hungate de 16 ml de volumen total conteniendo 9 ml de una solución de incubación (Theodorou *et al.*, 1994). Cada muestra de inóculo se estudió empleando 5 tubos, tres de los cuales incluyeron 100 mg por tubo de celulosa (S3504, SIGMA), xilano (X0627, SIGMA) o pectina (P9135, SIGMA) como sustrato y dos sin sustrato, considerados como blancos. Para su incubación, las muestras de líquido

ruminal se descongelaron rápidamente en laboratorio y se incubaron en condiciones de anaerobiosis inoculando 1 ml en cada uno de los tubos correspondientes, resultando 10 ml de volumen final de incubación. Para corregir posibles desviaciones entre tandas, se incubó una misma muestra de líquido ruminal de oveja como estándar, asegurando que las diferencias entre tandas para el estándar no fueran superiores al 10 %. Tras igualar la presión inicial de los tubos, se realizó la incubación en baño de agua a 38 °C. Se registró la presión interna de las botellas a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 30, 36 y 48 h de incubación mediante un manómetro de presión. Estas lecturas se convirtieron a volúmenes de gas mediante una ecuación lineal establecida en tubos iguales conteniendo cantidades conocidas de aire. Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando cuatro grupos diferentes: machos, hembras, jóvenes y cabras domésticas. Las diferencias entre medias para cada hora se compararon mediante la mínima diferencia significativa ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución de la fermentación microbiana de la pectina como polisacárido estructural fácilmente fermentable (Figuras 1 y 2) mostró diferencias significativas entre grupos en el volumen de gas producido entre 6 y 30 h de incubación ($p < 0,05$), presentando la cabra doméstica una menor producción de gas que los tres tipos de cabra montés. Cuando se comparó el ritmo de producción de gas (ml/g MO y h) los tres tipos de cabra montés mostraron dos máximos de fermentación, el primero entre las 4 y 6 horas y el segundo a las 12 horas. Por el contrario, en las muestras correspondientes a la cabra doméstica se observó únicamente un máximo a las 4 h, aunque menos pronunciado, manteniéndose por contra un ritmo de fermentación superior al de las muestras de *C. pyrenaica* a partir de 24 h.

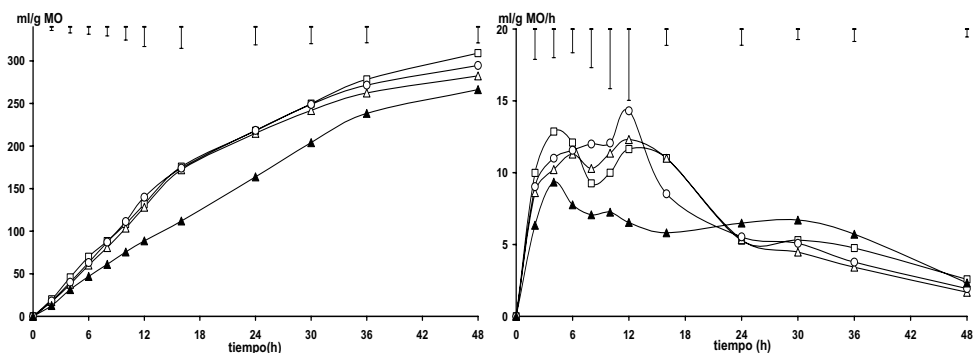
En el mismo sentido que con pectina como sustrato, la producción de gas acumulada de las muestras de inóculo incubadas con xilano (Figura 3) mostró diferencias significativas entre los tipos de *C. pyrenaica* y *C. hircus* desde las 4 hasta las 24 horas ($p < 0,05$), manteniendo la misma tendencia ($p < 0,10$) a partir de la hora 30. Este hecho se explica al analizar los ritmos de fermentación por hora (Figura 4), dado que los tres tipos de cabra montés presentaron un máximo inicial de fermentación entre las 10 y las 12 h, mientras que el ritmo en la cabra doméstica fue más constante, sin un máximo acusado.

Frente a celulosa como sustrato (Figuras 5 y 6), la cabra doméstica presentó menores volúmenes acumulados de gas producto de la fermentación, que tendieron a ser significativamente diferentes entre 10 y 16 horas de incubación ($p < 0,10$), y que alcanzaron significación estadística a partir de las 24 horas ($p < 0,05$). Este tipo de comportamiento parece indicar que la cabra doméstica posee una actividad fermentativa menor que la cabra montés con respecto a la celulosa, tanto en valores acumulados como en ritmos de fermentación ($p < 0,05$ a partir de 24 h).

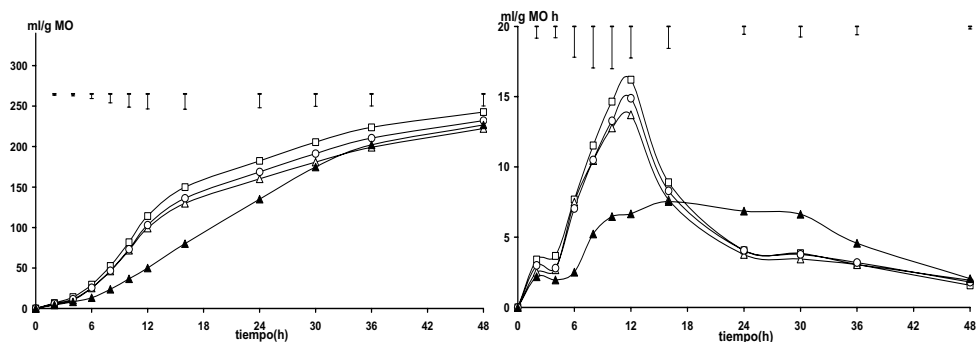
Los tipos de ejemplares de cabra montés a estudio se establecieron inicialmente asumiendo un diferente comportamiento alimentario, derivado tanto de su comportamiento social, dado que los machos presentan un comportamiento diferente al de las hembras según la época del año (Alados y Escos, 1985), como de su edad (jóvenes frente a hembras). En contra de lo esperado, no se observaron diferencias significativas entre los tres tipos de individuos de esta especie, salvo en momentos puntuales, rindiendo los individuos jóvenes volúmenes de gas numéricamente más altos como producto de la fermentación de celulosa y xilano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

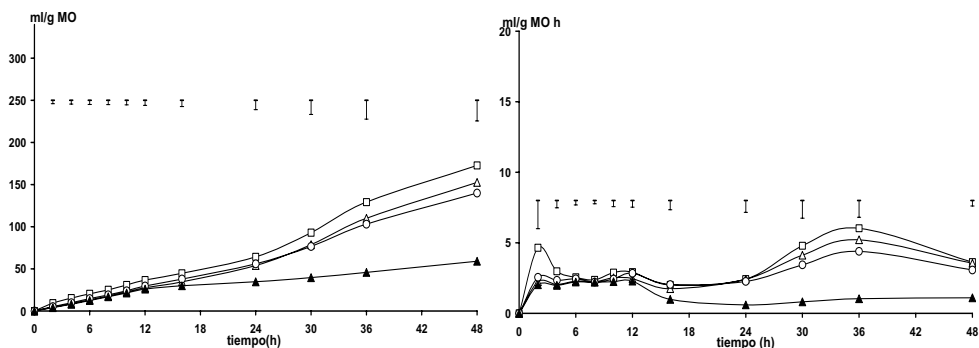
- Alados C.L., Escós J., 1985. *Naturalia hispanica* 28, 1-36.
Hofmann R.R., 1989. *Oecologia* 78, 443-457.
Martínez T., Martínez E., Fandos P., 1985. *Acta Theriol.* 30, 461-494
Theodorou M.K., Williams B.A., Dhanoa M.S., McAlan A.D.B., France J., 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
Westoby M., 1974. *American Naturalist* 108, 290-304.



Figuras 1 y 2: Evolución de la producción de gas (ml/g MO y ml/g MO/h, respectivamente) a partir de pectina según el tipo de animal (hembras O; machos Δ; jóvenes □ y domésticas ▲). Las barras superiores indican la desviación estándar residual.



Figuras 3 y 4: Evolución de la producción de gas (ml/g MO y ml/g MO/h, respectivamente) a partir de xilano según el tipo de animal (hembras O; machos Δ; jóvenes □ y domésticas ▲). Las barras superiores indican la desviación estándar residual.



Figuras 5 y 6: Evolución de la producción de gas (ml/g MO y ml/g MO/h, respectivamente) a partir de celulosa según el tipo de animal (hembras O; machos Δ; jóvenes □ y domésticas ▲). Las barras superiores indican la desviación estándar residual.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UNA PREPARACIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES CONTRA *S. bovis* SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN UNA ADAPTACIÓN RÁPIDA A CONCENTRADO

Blanch, M.¹, Calsamiglia, S.¹, DiLorenzo, N.², DiCostanzo, A.²

¹Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal. Dept de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. (* martabs80@hotmail.com)

²Dept. of Animal Science and Food Science and Nutrition, University of Minnesota, St. Paul 55108.

INTRODUCCIÓN

La acidosis ruminal es uno de los desórdenes nutricionales más comunes en vacuno lechero y de engorde, el cual conlleva un importante coste económico a las explotaciones ganaderas. Este problema es consecuencia de que los sistemas productivos actuales en nuestro país tienden cada vez más a la intensificación. Para aumentar la producción animal es necesario aumentar la ingesta de energía de los animales, para lo que es necesario el aumento de carbohidratos rápidamente fermentables en la dieta, lo cual se traduce en una acumulación de ácidos grasos volátiles y lactato, incrementando el riesgo de acidosis. Las bacterias productoras (*Streptococcus bovis*) y utilizadoras (*Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*) de lactato juegan un papel importante en este proceso. Algunos estudios recientes con anticuerpos específicos contra *S. bovis* han demostrado ser eficientes en el control de la población de *S. bovis*, incrementar el pH ruminal y (o) reducir la concentración de ácido láctico (Gill *et al.*, 2000). La adición de *M. elsdenii* como probiótico en un sistema *in vitro* de fermentación resultó con una disminución de la concentración de ácido láctico y el control del pH (Klieve *et al.*, 2003). Por lo tanto, esta nueva línea de investigación parece interesante, aunque son necesarios más estudios.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de una preparación de anticuerpos policlonaes contra *S. bovis* sobre la fermentación ruminal en terneras durante una transición rápida de una dieta forrajera a concentrada mediante la inmunización pasiva de los animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los efectos de administrar una preparación de anticuerpos policlonaes (PAPSb, CAMAS Inc., MN) se estudiaron mediante un experimento completamente al azar. Los animales, 12 terneras cruzadas provistas de un trocar ruminal (452 ± 20 kg PV), se distribuyeron en 2 grupos de 6 animales cada uno: el grupo control (C) y el grupo que recibía el tratamiento de anticuerpos contra *S. bovis* (T). El protocolo de inducción a la acidosis incluía 3 periodos: 3 meses de alimentación forrajera (100% festuca *ad libitum*), 10 días de adaptación al tratamiento (d 1-10 del experimento, 100% festuca *ad libitum* + 10 mL de PAPSb en la comida en el grupo T) y 12 días de cambio de dieta a concentrado (d 11-22 del experimento). El cambio de alimentación consistió en incrementar la ingesta de concentrado 2,5 kg de MS por día hasta alcanzar 12,5 kg (al cabo de 5 días) más festuca *ad libitum*. El grupo T recibió 10 mL de PAPSb diariamente, repartido en dos tomas de 5 mL cada una. La acidosis se declaró cuando el pH era inferior a 5,5 o cuando la ingesta de concentrado se reducía más del 50% respecto al día anterior. Cuando un animal era declarado acidótico se retiraba del experimento.

Las muestras de líquido ruminal se tomaron a las 0h y 6h post-alimentación de los días 9, 10, 12 y 14 a 22. El líquido ruminal se filtró con una doble capa de gasa para determinar pH,

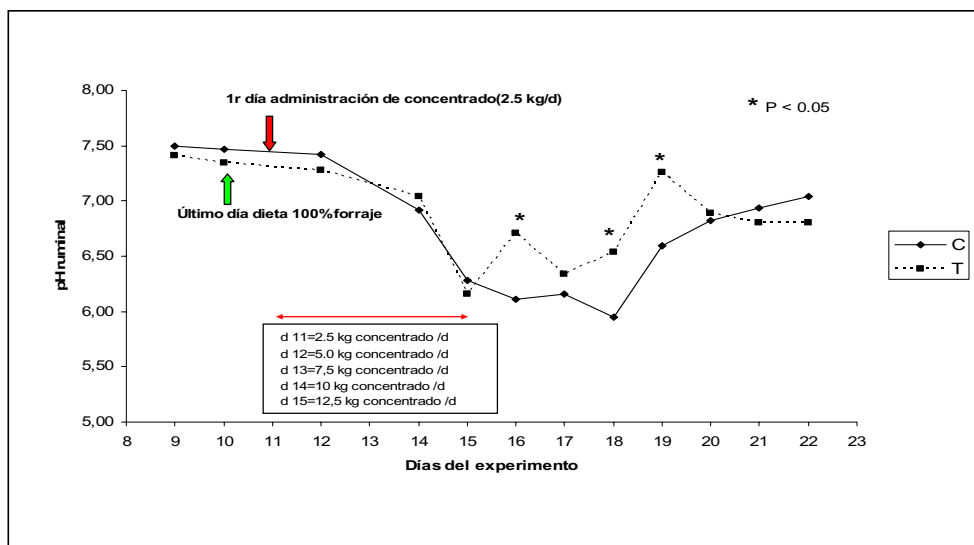
ácidos grasos volátiles y fracciones nitrogenadas (péptidos largos, péptidos cortos y amoníaco).

Los datos de pH, ácidos grasos volátiles, y fracciones nitrogenadas se analizaron usando el PROC MIXED del SAS (versión 8.2). Para calcular el número de días hasta entrar en acidosis o para tener un $\text{pH} < 5,5$, se utilizó el programa PROC GENMOD del SAS (versión 8.2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El grupo T tuvo mayores valores de pH a las 0h post-alimentación en los días 16 (6,70 vs 6,11), 18 (6,54 vs. 5,95) y 19 (7,26 vs. 6,59) de experimento comparado con el grupo C ($P < 0,05$; Figura 1). DiLorenzo *et al.* (2006), también observaron un aumento del pH ruminal de terneros en los animales tratados con PAPSb respecto a los animales control (6,08 y 5,67, respectivamente). Además, el aumento del pH ruminal ya se observó en otros estudios con inmunización activa contra *S. bovis* (Gill *et al.*, 2000; Shu *et al.*, 1999). El aumento de pH se atribuye a una disminución en el número de *S. bovis* (DiLorenzo *et al.*, 2006; Owens *et al.*, 1998).

Figura 1. Valores de pH ruminal a las 0h post-alimentación.

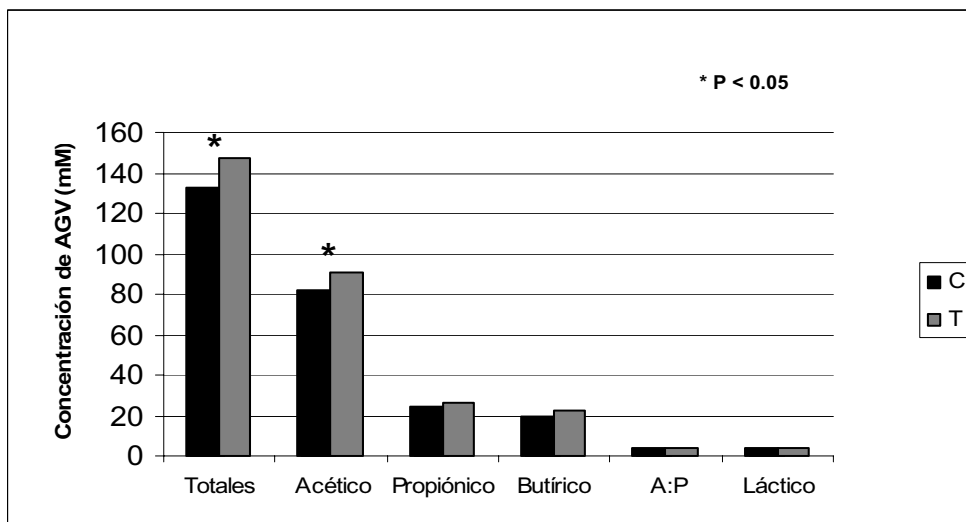


El número de días para alcanzar acidosis tendieron ($P < 0,15$) a aumentar en el grupo T comparado con el control (9 y 6,7, respectivamente). Asimismo, el número de días del grupo T fue superior ($P < 0,05$) al grupo C si se considera exclusivamente el número de días para alcanzar un $\text{pH} < 5,5$ (10,5 y 7, respectivamente).

En la figura 2, se muestra que el grupo T tuvo mayor concentración de ácidos grasos volátiles a las 6h post-alimentación (132,9 y 147,1 para el grupo C y T, respectivamente) y mayor concentración de ácido acético (81,8 y 90,3 mM para grupo C y T, respectivamente).

No se observaron cambios de trascendencia en el metabolismo nitrogenado (no se muestran los datos).

Figura 2. Concentración de ácidos grasos volátiles en los animales control (C=negro) y los tratados con PAP-Sb (T=rayas).



CONCLUSIONES

Estos resultados indican que la administración de PAPSb puede ser una alternativa efectiva para reducir la acidosis ruminal en terneras en una adaptación rápida a concentrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DiLorenzo, N., Diez-González, F., DiCostanzo, A. 2006. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on ruminal bacterial populations and ruminal pH of steers fed high-grain diets. *J. Anim. Sci.* 84:2178-2185.
- Gill, H.S., Shu, Q., Leng, R.A. 2000. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. *Vaccine.* 18:2541-2548.
- Klieve 2003 Klieve, A.V., Hennessy, D., Ouwerkerk, D., Forster, R.J., Mackie, R.I., Attwood, G.T. 2003. Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. *J. Appl. Microbiol.* 95:621-630.
- Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Animal Sci.* 76:275-286.
- Shu, Q., Gill, H.S., Hennessy, D.W., Leng, R.A., Bird, S. H., Rowe, J. B. 1999. Immunisation against lactic acidosis in cattle. *Research in Veterinary Science.* 67:65-71.

FERMENTACIÓN RUMINAL EN CAPRINO Y EN FERMENTADORES DE FLUJO CONTINUO PROMOVIDA POR DIETAS CON DISTINTAS PROPORCIONES DE HENO DE ALFALFA Y CONCENTRADO*

Cantalapiedra Hajar, G., Martín García, A.I., Moumen A., Molina Alcalde, E.
Unidad de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1.
18008 Granada, España. e-mail: molina@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Los crecientes problemas éticos, derivados de la necesidad de reducir el número de animales y, especialmente de animales fistulados, empleados en estudios de nutrición de rumiantes, junto con el elevado coste y laboriosidad de los ensayos *in vivo* han centrado el interés de los nutricionistas en el desarrollo de técnicas de simulación, especialmente fermentadores y, en el estudio de su potencial para predecir lo que ocurre *in vivo*. Sin embargo, las comparaciones directas *in vivo* e *in vitro* son escasas y, las que existen se refieren solo a ganado vacuno (Hannah *et al.*, 1986; Mansfield *et al.*, 1995; Merry *et al.*, 2006). Las diferencias en la fermentación ruminal entre el ganado vacuno y los pequeños rumiantes (Prigge *et al.*, 1984) hacen que la extrapolación de resultados obtenidos en vacuno a pequeños rumiantes resulte inadecuada. Por ello, en este trabajo se comparan parámetros de la fermentación ruminal promovida en el rumen de caprino y en fermentadores de flujo continuo por dietas con distintas proporciones de heno de alfalfa y concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio *in vivo* se llevó a cabo utilizando 4 cabras de raza granadina (45±2,4 kg PV) dotadas de cánula ruminal permanente. En el estudio *in vitro* se utilizaron 4 fermentadores de flujo continuo (Miettinen y Setälä, 1989). Los animales y los fermentadores recibían, de manera sucesiva, dos dietas constituidas por heno de alfalfa y un concentrado comercial en proporciones 70:30 y 30:70, cuyos contenidos en proteína bruta y FND eran de 149 y 152 y de 318 y 228 g/kg materia seca, respectivamente. Los animales se alimentaron en cantidad suficiente para superar el 20% del nivel de mantenimiento energético (Prieto *et al.*, 1990), en dos tomas iguales a las 8:00 y 14:00 h. Cada uno de los ensayos *in vivo* incluía un periodo de adaptación de 10 días de duración y 1 día de muestreo en el que se extrajeron muestras del contenido ruminal (100 ml) de cada animal a las 0, 2, 4, 6, 8 y 12 horas tras suministrar el alimento. Inmediatamente se determinó el pH y, a continuación se filtró a través de 4 capas de gasa separándose 2 alícuotas del contenido ruminal filtrado que se conservaron a -20° C para la determinación de las concentraciones de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) y de ácidos grasos volátiles (AGV). Un día después se extrajo contenido ruminal de cada animal, se mezcló y se utilizó como inóculo de los fermentadores.

Cada uno de los ensayos *in vitro* incluía un periodo de adaptación de 6 días y 1 día para la recogida de muestras. El primer día de cada ensayo los fermentadores se inoculaban con el contenido ruminal de las 4 cabras canuladas, alimentadas con la misma dieta que se ensayaba en los fermentadores. Cada fermentador recibía diariamente 30g de MS en dos tomas iguales, ofrecidas a las 8:00 y a las 14:00. El día de muestreo se tomaron muestras (20 ml) del contenido de los fermentadores a las 0, 2, 4, 6, 8 y 12 horas tras suministrar el alimento. El pH se midió en cada fermentador antes del muestreo correspondiente. En cada muestreo se procedió como se ha descrito en los ensayos *in vivo* para la obtención de dos alícuotas para la determinación de las concentraciones de N-NH₃ y AGV, que se analizaron siguiendo las técnicas de Weatherburn (1967) y Jouany (1982), respectivamente. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza, para cada una de las dietas ensayadas.

*Este trabajo forma parte del Proyecto AGL-2004-04755-CO2-02/GAN financiado por el M.E.C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguno de los valores de pH (Tabla 1) mostró diferencias ($P>0,05$) cuando se comparan el rumen y los fermentadores alimentados con cualquiera de las dos dietas estudiadas. Por el contrario, Carro *et al.* (2005) observaron valores de pH significativamente inferiores en los fermentadores que en el rumen de ovino, con una dieta rica en concentrado. Los valores de pH de las muestras tomadas antes de la ingestión de alimento, tanto de contenido del rumen como de los fermentadores, fueron superiores ($P<0,05$) con la dieta que contenía mayor porcentaje de forraje, en comparación con aquella en la que predominaba el concentrado (6,89 y 6,72, respectivamente). Los valores de pH experimentaron oscilaciones, en función del tiempo transcurrido desde el suministro del alimento (Figura 1), que eran importantes en el rumen y menores en los fermentadores. En cualquier caso, los valores de pH nunca fueron inferiores a 6,2.

Las concentraciones de $N-NH_3$ fueron similares ($P>0,05$) en el rumen de caprino y en los fermentadores y para ambas dietas, próximos a 24 mg/100 ml. Tanto Mansfield *et al.* (1995) como Hannah *et al.* (1986) encontraron valores de $N-NH_3$ equivalentes en fermentadores de flujo continuo y en el rumen de vacuno de leche. Los valores de AGV totales encontrados en el presente trabajo son del mismo orden que los observados por Carro *et al.* (2005) y, de acuerdo con esos autores, similares en el rumen y en los fermentadores. Sin embargo, Mansfield *et al.* (1995) encontraron concentraciones de AGV significativamente superiores en fermentadores de flujo continuo que en el rumen de vacuno de leche, diferencias que pueden ser atribuidas a la falta de absorción de productos volátiles en los fermentadores. (Hannah *et al.*, 1986). Probablemente como reflejo de las variaciones del pH, se observaron diferencias ($P<0,05$), debidas a la dieta, en las concentraciones de ácidos propionico y valérico siendo la concentración de este último superior ($P<0,001$) en los fermentadores que en el rumen (2,69 y 1,87, respectivamente) de acuerdo con las observaciones de Mansfield *et al.* (1995). La relación acético:propionico presentó valores que oscilaban entre 3,56 y 4,07. Aunque no fueron diferentes ($P>0,05$) los valores correspondientes a la dieta rica en forraje tendía a ser más elevados que con la dieta rica en concentrado. Los valores encontrados en el rumen de caprino son superiores a los encontrados en ovino por Carro *et al.* (2005).

Las interacciones sistema x dieta no fueron significativas ($P>0,05$) para ninguno de los parámetros estudiados. Puesto que, solo con las excepciones descritas, no se observaron diferencias significativas atribuibles al sistema (rumen vs fermentadores) puede concluirse que los fermentadores de flujo continuo presentan una gran capacidad para simular la fermentación que tiene lugar en el rumen de caprino, tanto si se suministra una dieta rica en forraje como en concentrado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carro MD, Ranilla RJ, Martín AI, Molina E, 2005. Estudio comparativo de la fermentación de una dieta con un alto contenido en concentrado en ovejas y en dos sistemas de fermentadores. ITEA 2005.
- Hannah, SM, Stern, MD, Ehle FR, 1986. Evaluation of a dual flow continuous culture system for estimating bacterial fermentation in vivo of mixed diets containing various soybean products. *Animal Feed Science and Technology*, 16: 51-62.
- Jouany JP, 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Science Alimentaria*. 2: 131-144.
- Mansfield HR, Endres MI and Stern MD, 1995. Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous culture. *Animal Feed Science and Technology*. 55: 47-66.
- Merry RJ, Lee MR, Davies DR, Dewhurst RJ, Moorby JM, Scollan ND, Theodorou MK, 2006. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant

digestion. 1. In vitro and in vivo studies of nitrogen utilization. Journal of Animal Science 2006 Nov;84(11): 3049-60.

Miettinen H and Setälä J, 1989. Design and development of a continuous culture system to study rumen fermentation. Journal of Agriculture Science Finland. 61: 463-473.

Prieto C., Aguilera JF, Lara L., Fonollá J, 1990. Protein and energy requirements for maintenance of indigenous Granadina goats. British Journal of Nutrition. 63(2): 155-163.

Prigge EC, Baker MJ, Varga GA. 1984. Comparative digestion, rumen fermentation and kinetics of forage diets by steers and wethers. Journal of Animal Science. 59(1): 237-45.

Weatherburn MW, 1967. Phenol hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry, 89: 971-974.

Tabla 1. Valores de pH, concentraciones de N-NH₃ (mg/dL) y de ácidos grasos volátiles totales (mmol/L), porcentaje de AGV individuales y relación acético:propiónico (C2:C3) en el rumen de cabras y en el contenido de fermentadores de flujo continuo alimentados con las dietas experimentales

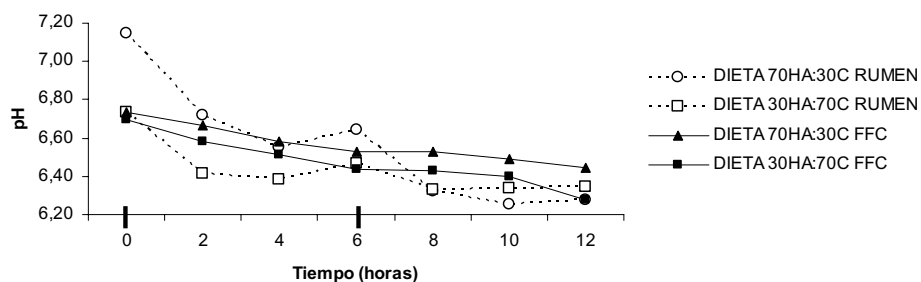
	Sistema		Dieta ²		Nivel de significación			EEM ³
	Rumen	FFC ¹	70HA:30C	30HA:70C	Sistema	Dieta	Interacción	
pH (0-12h)	6,41	6,52	6,54	6,40	0,226	0,099	0,531	0,043
pH (0 h)	6,89	6,72	6,89	6,72	0,242	0,026	0,390	0,072
pH (2 h)	6,52	6,63	6,67	6,48	0,250	0,057	0,250	0,046
N-NH ₃	23,5	24,7	23,3	24,8	0,674	0,596	0,052	0,857
AGV total	101	125	119	107	0,175	0,051	0,739	8,649
Acético	67,3	66,6	67,7	66,3	0,571	0,242	0,819	0,591
Propiónico	17,9	17,9	16,8	19,0	0,999	0,034	0,344	0,472
Butírico	10,3	9,91	10,3	9,88	0,621	0,560	0,352	0,404
Isobutírico	1,26	1,07	1,18	1,15	0,271	0,872	0,271	0,086
Valérico	1,87	2,69	2,44	2,13	0,001	0,028	0,145	0,064
Isovalérico	1,45	1,75	1,60	1,60	0,397	0,980	0,659	0,173
C2:C3	3,84	3,79	4,07	3,56	0,851	0,057	0,348	0,125

¹ FFC : Fermentadores de flujo continuo

² 70HA:30C = 70% Heno de alfalfa + 30% Concentrado; 30HA:70C = 30% Heno de alfalfa + 70% Concentrado

³ Error estándar de la media

Figura 1. Evolución del pH en el rumen de caprino y en fermentadores de flujo continuo.



EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ACEITES VEGETALES AL PIENSO SOBRE LA ACTIVIDAD FERMENTATIVA EN EL RUMEN¹

Vargas¹, J.E., López, S., Yañez-Ruiz², D.R., Fernández, M.
Hervás³, G., Mantecón³, A.R., González, J.S.

Dpto. Producción Animal. Universidad de León. 24071 León. e-mail: s.lopez@unileon.es

¹ Universidad de Caldas, Colombia

² University of Wales, Institute of Rural Science, Aberystwyth, Reino Unido

³ Estación Agrícola Experimental (CSIC), Finca Marzanas, 24346-Grulleros
Unidad Asociada al CSIC Grupo de Nutrición-Practicultura del Departamento de Producción Animal de la Universidad de León a través de la Estación Agrícola Experimental de León

INTRODUCCION

La inclusión de lípidos en los piensos para los animales rumiantes ha cobrado un considerable interés en los últimos años, como un medio para aumentar la concentración energética del alimento que permita incrementar la ingestión de energía y, consecuentemente, alcanzar elevados niveles de producción. Además, mediante la adición de aceites ricos en ácidos grasos (AG) poliinsaturados es posible aumentar el contenido de ácido linoleico conjugado (ALC) en la carne y la leche, ya que este compuesto es un intermediario en la biohidrogenación ruminal de los AG insaturados. El ALC es considerado un nutriente funcional por los efectos beneficiosos que sobre la salud humana se le han atribuido (Park y Pariza, 2007). Por todo ello, la inclusión en los piensos de aceites vegetales ricos en AG poliinsaturados (girasol y lino), o de aceites de pescado o extraídos de algas marinas podría tener un efecto favorable para lograr este objetivo (De La Torre *et al.*, 2006; Collomb *et al.*, 2006; Dewhurst *et al.*, 2006).

Las técnicas de simulación de la fermentación ruminal (mediante cultivos continuos como el RUSITEC) y de producción de gas constituyen dos de los procedimientos experimentales *in vitro* más utilizados en la actualidad para el estudio de los procesos de fermentación ruminal, pues permiten el control de las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo la fermentación y de los factores de variación que la afectan (Rymer *et al.*, 2005). El fermentador RUSITEC (también llamado rumen artificial) permite simular el proceso de fermentación ruminal durante periodos de tiempo relativamente largos. La técnica de producción de gas se ha utilizado para estudiar la cinética de fermentación, lo que permite estimar los parámetros de degradación de los alimentos o establecer diferencias entre distintos inóculos en cuanto a su actividad fermentativa.

El objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de la adición de varios aceites vegetales (oliva, girasol y lino) al pienso sobre la actividad fermentativa en el rumen.

MATERIAL Y METODOS

Los tratamientos evaluados estuvieron determinados por la fuente de aceite añadida al pienso: control (pienso sin aceite), oliva (igual al control más un 6% de aceite de oliva), girasol (igual al control más un 6% de aceite de girasol) y lino (igual al control más un 6% de aceite de lino). El pienso utilizado fue una mezcla *unifeed* preparada con los siguientes ingredientes: 25% maíz, 15% cebada, 20% soja, 20% alfalfa deshidratada, 9% pulpa de remolacha, 6% melazas, 1,5% bicarbonato y 3,5% corrector. Su composición química (por kg de MS) fue: 926 g de MO, 180 g de proteína bruta y 209 g de FDN.

El experimento se inició con una prueba en el fermentador RUSITEC con 16 vasijas de fermentación (4 vasijas por tratamiento). Esta prueba tuvo una duración total de tres semanas. Diariamente, en cada vasija se introdujo una bolsa de nylon que contenía 15 g del pienso correspondiente, al tiempo que se retiraba otra bolsa que había permanecido en la vasija durante 48 h. La rutina de trabajo con los fermentadores RUSITEC ha sido descrita

¹ Proyecto financiado por la CICYT AGL2005-04760-C02-02

en detalle por Carro *et al.* (1999). Una vez finalizada la prueba RUSITEC, el contenido de cada vasija se utilizó como inóculo para llevar a cabo un ensayo de cinética de fermentación mediante la técnica de la producción de gas. Este ensayo se realizó en viales de 120-ml de capacidad en los que se había pesado previamente 500 mg de sustrato. Los sustratos utilizados fueron: celulosa, almidón y el mismo pienso (molido a 1 mm en molino tipo Culati) que había sido utilizado en la prueba RUSITEC. Con el contenido líquido de cada vasija RUSITEC se inocularon un total de ocho viales, dos con cada uno de los sustratos de incubación y otros dos sin sustrato (blancos). Para ello, cada inóculo se mantuvo en las vasijas RUSITEC a 39°C y se homogenizó inmediatamente antes de que en cada vial se dosificaran, en condiciones de anaerobiosis, 50 ml del contenido de la vasija correspondiente utilizando una bomba peristáltica. Los viales se cerraron con tapones de caucho y se precintaron con cápsulas de aluminio. Luego, los viales se agitaron y se colocaron dentro de una estufa de cultivo que se mantuvo a una temperatura de 39°C.

Al cabo de 4, 7, 10, 13, 17, 21, 25, 30, 35, 45, 57, 69, 105, 117 y 132 horas de incubación se midió la producción de gas fermentación a partir del aumento de presión en el espacio de cabeza de los viales, utilizando un transductor de presión. Para el análisis de resultados, los datos de producción acumulada de gas (corregidos para los blancos) se ajustaron (individualmente para cada vial) al modelo exponencial $G = A (1 - e^{-c(t-L)})$. Posteriormente, se usaron las estimaciones de los parámetros para el cálculo de la producción de gas (ml) a las 24 (G24), 48 (G48) y 96 h (G96) en el caso del almidón y el pienso, y a las 30 (G30), 48 (G48) y 96 h (G96) en el caso de la celulosa. Finalmente, tanto los datos de producción de gas estimada como los valores de los parámetros A, c y L de la ecuación mencionada se sometieron a un análisis de varianza a una vía, con el tipo de aceite añadido al pienso en la prueba RUSITEC como único factor de variación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los aceites empleados se caracterizan por sus contenidos en ácido oleico (oliva), linoleico (girasol) y linolénico (lino). En relación con los parámetros de degradación del pienso, en la Tabla 1 se observa que la producción asintótica de gas (A) y las producciones de gas a las 24, 48 y 96 h fueron mayores para el tratamiento control y menores cuando el inóculo procedía de las vasijas en las que se había incubado el pienso con aceite de lino. No hubo diferencias significativas entre tratamientos ni en el ritmo de fermentación (c) ni en el tiempo de retraso (L).

Tabla 1. Efecto del inóculo sobre la cinética de fermentación in vitro del pienso

Tratamiento	A ml	c h ⁻¹	L Horas	Gas 24 h ml	Gas 48 h ml	Gas 96 h ml
Control	311 a	0.044	2.7	189 a	268 a	306 a
Oliva	291 b	0.046	2.5	184 ab	256 b	287 b
Girasol	287 b	0.045	2.6	176 b	249 b	282 bc
Lino	277 b	0.042	2.5	165 c	236 c	271 c
EED	8.2	0.0016	0.11	4.4	6.0	7.6
P ≤	0.003	0.140	0.105	0.001	0.001	0.001

La tendencia fue similar en el caso del almidón (actividad amilolítica del inóculo), si bien se observaron diferencias en el ritmo de fermentación del almidón que fue más rápido con el inóculo control y menor cuando los inóculos procedían de las vasijas en las que se incubó el pienso con aceites de girasol y de lino (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto del inóculo sobre la cinética de fermentación in vitro del almidón

Tratamiento	A ml	c h ⁻¹	L Horas	Gas 24 h ml	Gas 48 h ml	Gas 96 h ml
Control	311	0.059 a	4.6 a	210 a	285 a	309
Oliva	310	0.043 b	2.1 b	191 b	268 b	305
Girasol	301	0.039 c	2.2 b	171 c	250 c	293
Lino	306	0.039 c	2.4 b	172 c	252 c	296
EED	11.3	0.0020	0.29	4.7	7.3	10.1
P ≤	0.837	0.001	0.001	0.001	0.001	0.394

Las diferencias entre tratamientos experimentales fueron más acusadas en lo que se refiere a la cinética de fermentación de la celulosa (Tabla 3), como un indicador de la actividad celulolítica de la población microbiana de los cultivos continuos mantenidos en las vasijas RUSITEC en las que se incubó uno u otro pienso. Las producciones de gas fueron más elevadas, el ritmo de fermentación más rápido y el tiempo de retraso más corto en el tratamiento control, situándose en el otro extremo los inóculos procedentes de vasijas en las que se incubó el pienso con aceite de girasol o de lino.

Tabla 3. Efecto del inóculo sobre la cinética de fermentación in vitro de la celulosa

Tratamiento	A ml	c h ⁻¹	L Horas	Gas 30 h ml	Gas 48 h ml	Gas 96 h ml
Control	352 a	0.018 a	9.8 c	108 a	176 a	278 a
Oliva	300 b	0.017 a	13.7 b	68 b	130 b	224 b
Girasol	278 c	0.016 a	16.7 a	52 c	110 c	201 c
Lino	271 c	0.014 b	15.2 ab	49 c	100 c	184 d
EED	12.4	0.0010	1.36	5.1	5.3	8.0
P ≤	0.001	0.006	0.001	0.001	0.001	0.001

La adición de aceites vegetales al pienso reduciría las actividades amilolítica y, en mayor medida, celulolítica de la población microbiana ruminal, siendo este efecto más acusado con aceites ricos en AG poliinsaturados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carro, M.D.; S. López; C. Valdés; F.J. Ovejero. 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Animal Feed Science and Technology*, **79**: 279-288.
- Collomb, M.; A. Schmid; R. Sieber; D. Wechsler; E.L. Ryhanen. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal*, **16**: 1347-1361.
- De La Torre, A.; D. Gruffat; D. Durand; D. Micol; A. Peyron; V. Scislowski; D. Bauchart. 2006. Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. *Meat Science*, **73**: 258-268.
- Dewhurst, R.J.; K.J. Shingfield; M.R.F. Lee; N.D. Scollan. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, **131**: 168-206.
- Park, Y.; Pariza, M.W. 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Research International*, **40**: 311-323.
- Rymer, C.; J.A. Huntington; B.A. Williams; D.I. Givens. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, **123-124**: 9-30.

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO CON UNA ENZIMA FIBROLÍTICA SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL CRECIMIENTO MICROBIANO EN FERMENTADORES *

Giraldo, L.A.^{1,2}, Tejido, M.L.¹, Ranilla, M.J.¹ y Carro, M.D.¹

¹Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León

² Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Calle 64 N° 59-20, Medellín. Correo electrónico: mdcart@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Un número considerable de estudios sobre el uso de enzimas fibrolíticas exógenas se han llevado a cabo en los últimos años. Sin embargo, los mecanismos por los cuales estos aditivos mejoran la digestión de la fibra en el rumen no han sido dilucidados claramente, y la respuesta observada parece estar afectada por muchos factores (Wang *et al.*, 2001). El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de la aplicación de un preparado enzimático de origen fúngico sobre la fermentación y el crecimiento microbiano de un sustrato con alto contenido de forraje en fermentadores de flujo semicontinuo (Rusitec).

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando ocho fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC). El sustrato estuvo compuesto por una mezcla 60:40 de heno de gramíneas y un concentrado de uso comercial. El sustrato contenía 939 g de materia orgánica, 159 g de proteína bruta, 496 g de fibra neutro detergente (FND) y 271 g de fibra ácido detergente por kg de materia seca (MS). Los tratamientos experimentales fueron: sustrato sin tratar (control) y tratamiento con una celulasa producida por *Trichoderma longibrachiatum* (ENZ) y comercializada por Fluka Chemicals (Seelze, Alemania). La preparación enzimática se seleccionó a partir de los resultados obtenidos en estudios previos (Giraldo *et al.*, 2007) y se aplicó a una dosis de 65 unidades enzimáticas (UE) por g de MS del sustrato. Una UE se definió como la cantidad de enzima necesaria para liberar un μmol de azúcar (glucosa o xilosa) de diferentes sustratos por minuto a 39°C y pH=6,5; de esta forma, cada fermentador recibió diariamente 286 mg de enzima. La enzima se disolvió en una solución amortiguadora de fosfato sódico 1 mM (pH 6,5) y fue pulverizada sobre el sustrato (1 ml/g MS de sustrato) utilizando un pulverizador manual. El sustrato administrado a los fermentadores del tratamiento control fue tratado con una cantidad idéntica de la solución amortiguadora. La aplicación de la solución amortiguadora (con y sin enzima) se realizó 24 h antes de que el sustrato fuera administrado a los fermentadores, y durante este tiempo el sustrato se mantuvo en el laboratorio a temperatura ambiente (21-23°C).

Se realizó una serie de incubación de 18 días de duración y se asignó cada tratamiento a cuatro fermentadores. El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen y alimentadas diariamente con 700 g heno de gramíneas y 300 g de concentrado. Cada fermentador recibió diariamente 20 g de MS de sustrato, el cual se administró dentro de bolsas de nylon (100 μm de tamaño de poro) y se mantuvo dentro del fermentador durante 48 h. Durante los días 11, 12, 13 y 14 se determinaron los siguientes parámetros: pH, desaparición del sustrato (MS y FND) y producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y metano. Durante los días 15 y 16 se determinó el crecimiento de los microorganismos asociados a la fase sólida (MAS) y a la fase líquida (MAL), para lo que se utilizó ¹⁵N como marcador microbiano.

Durante los días 17 y 18 el sustrato que se introdujo en los fermentadores fue repartido en tres bolsas: una que contenía 18 g y dos que contenían 4 g cada una de ellas. Las bolsas que contenían 4 g se extrajeron de los fermentadores tras 6 h de incubación, mientras que la bolsa que contenía 18 g se extrajo a las 48 h de incubación. Una de las bolsas con 4 g se lavó en lavadora automática (programa en frío, 20 minutos) y se secó en una estufa de aire

* Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Junta de Castilla y León (LE040A05).

forzado a 60°C durante 48 h para determinar la desaparición de MS (DMS) y FND (DFND). La otra bolsa con 4 g fue liofilizada para determinar su contenido en N no amoniacal y el enriquecimiento en ¹⁵N. Asimismo, el día 17 se tomaron muestras del fluido de los fermentadores inmediatamente antes de la administración del sustrato y se congelaron a -80°C. En estas muestras se determinó su actividad endoglucanasa, xilanasas y amilasa de acuerdo a los métodos analíticos descritos por Colombatto y Beauchemin (2003). Finalmente, tras 6 h de fermentación se tomó una muestra del fluido de los fermentadores y se utilizó para inocular tubos de cultivo para el recuento de bacterias totales y celulolíticas siguiendo el procedimiento descrito por Dehority *et al.* (1989).

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de la varianza utilizando un modelo split-plot en el que se incluyeron los siguientes efectos: tratamiento enzimático, día de muestreo y unidad experimental (fermentador). El efecto debido al tratamiento enzimático se contrastó con la varianza residual entre fermentadores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento experimental no afectó ($P > 0,05$) al pH del contenido de los fermentadores (6,56 y 6,58 para los tratamientos control y **ENZ**, respectivamente) ni a la cantidad de diárida efluente (586 y 581 ml). Los efectos del tratamiento sobre el resto de las variables determinadas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Efecto del tratamiento del sustrato con un aditivo enzimático (**ENZ**) sobre la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), metano y NH₃, la desaparición de materia seca (DMS) y fibra neutro detergente (DFND), el enriquecimiento en ¹⁵N del residuo de incubación (6 h), el crecimiento microbiano y la actividad enzimática del fluido ruminal en fermentadores Rusitec.

	Control	ENZ	e.e.d. ¹	P =
Total AGV (mmol/d)	56,8	60,4	2,21	0,091
Acético (mmol/d)	30,1	32,8	1,10	0,021
Propiónico (mmol/d)	10,3	8,05	0,44	<0,001
Butírico (mmol/d)	11,3	13,4	0,65	0,004
Acético/Propiónico	2,92	4,07	0,101	<0,001
Metano (mmol/d)	14,3	16,0	0,70	0,014
NH ₃ (mg/d)	102	150	4,85	<0,001
Desaparición (%) de:				
DMS-6h	39,8	48,2	1,36	<0,001
DMS-48h	58,6	62,3	0,54	<0,001
DFND-6h	28,8	35,1	2,16	0,012
DFND-48h	36,6	40,9	0,71	<0,001
¹⁵ N en el residuo de incubación (%)	4,55	5,28	0,330	0,080
N microbiano (mg/d)	140	160	7,85	0,049
MAS	67,7	69,5	4,64	0,713
MAL	72,0	90,5	6,35	0,034
Bacterias totales (x10 ⁹ /ml)	2,38	7,00	1,97	0,067
Bacterias celulolíticas (x10 ⁶ /ml)	2,40	8,05	1,24	0,006
Actividad endoglucanasa ²	128	503	33,7	<0,001
Actividad xilanasas ²	471	3722	917	0,017
Actividad amilasa ²	397	1180	248	0,025

¹ error estándar de la diferencia

² nmol de glucosa (xilosa para la actividad xilanasas) liberados por ml y min a 39°C y pH 6,5.

El tratamiento del sustrato con **ENZ** tendió a aumentar ($P=0,091$) la producción diaria de AGV, y aumentó la producción de acético ($P=0,021$), propiónico ($P<0,001$) y butírico ($P=0,004$), y la relación acético:propiónico ($P<0,001$). Asimismo, se observó un aumento ($P<0,001$) en la producción de amoníaco en los fermentadores que recibieron sustrato tratado con **ENZ**. En coincidencia con resultados obtenidos en estudios previos (Giraldo *et al.*, 2005), la desaparición de MS y FDN del sustrato fue mayor ($P<0,05$) para el sustrato tratado con **ENZ**, tanto a las 6 como a las 48 h de fermentación. Sin embargo, las diferencias observadas en la desaparición del sustrato fueron más marcadas a las 6 h (21 y 22% para la MS y la FND, respectivamente) que a las 48 h (6,3 y 12%). El tratamiento del sustrato con **ENZ** produjo un aumento ($P=0,014$) de la producción diaria de metano, pero no afectó ($P=0,236$) a la relación metano/total AGV (mol/mol; 0,252 y 0,265 para los tratamientos control y **ENZ**, respectivamente).

Algunos autores han señalado que las enzimas fibrolíticas pueden provocar la hidrólisis de algunos enlaces de la pared celular, liberando azúcares solubles que favorecen la colonización de la fibra por los microorganismos ruminales (Wang *et al.*, 2001). En este trabajo, el tratamiento con **ENZ** tendió ($P=0,080$) a aumentar el enriquecimiento en ^{15}N del sustrato tras 6 h de incubación, lo que indicaría que favoreció la colonización microbiana. Asimismo, el tratamiento con **ENZ** produjo una estimulación del crecimiento microbiano ($P=0,049$), que se debió al aumento de los MAL ($P=0,034$), ya que no se detectaron efectos sobre los MAS. Adicionalmente, en el fluido de los fermentadores que recibieron el sustrato tratado con **ENZ** se observó una mayor actividad endoglucanasa ($P<0,001$), xilanasas ($P=0,017$) y amilasa ($P=0,025$) que en los fermentadores control, lo que coincide con una mayor concentración de MAL y de bacterias celulolíticas ($P=0,006$) en el mismo. Wang *et al.* (2001) observaron resultados similares tras utilizar una enzima con actividad xilanasas en fermentadores Rusitec.

Los resultados de este estudio indican que la utilización de una enzima producida por *T. longibrachiatum* produjo un aumento de la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales. El tratamiento del sustrato con **ENZ** estimuló la colonización microbiana y aumentó el crecimiento de los microorganismos y la actividad enzimática del fluido ruminal. Los resultados obtenidos sugieren que estos mecanismos de acción podrían explicar los efectos de las enzimas fibrolíticas sobre la fermentación ruminal observados previamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Colombatto, D, Beauchemin ,K.A. 2003. A proposed methodology to standarize the determination of enzymatic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. Canadian Journal of Animal Science, 83, 559-568.
- Dehority, B.A., Tirabasso, P.A., Grifo Jr., A.P. 1989. Most probable-number procedures for enumerating ruminal bacteria, including the simultaneous estimation of total bacteria and cellulolytic numbers in one medium. Applied and Environmental Microbiology, 55, 2789-2792.
- Giraldo, L.A., Tejido M., Ranilla M.J., M.D. Carro. 2005. Degradación ruminal de un sustrato con alto contenido de forraje en fermentdores de flujo semicontinuo: efecto del tratamiento con enzimas fobrolíticas. ITEA, 26, 584-586.
- Giraldo, L.A., Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 2007. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro ruminal fermentation of substrates with different forage:concentrate ratios. Animal Feed Science and Technology (En evaluación).
- Wang, Y., McAllister, T., Rode, L., Beauchemin, K., Morgavi, D., Nsereko, V., Iwaasa, A., Yang, W. 2001. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec). British Journal of Nutrition, 85, 325-332.

EFFECTOS DEL pH Y DEL TIPO DE ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL EN CULTIVO CONTINUO

Fuentes, M.C.¹, Calsamiglia, S.¹

¹Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España. Correo electrónico : Sergio.Clasamiglia@uab.es

INTRODUCCIÓN

Se realizó un experimento in vivo utilizando 356 vacas al inicio de la lactación (25 DEL), la mitad de estos animales recibió una dieta con semilla de soja extrusionada y la otra mitad una dieta con semilla de lino extrusionada. Se observó que el porcentaje de grasa en leche de los animales que recibieron la dieta lino disminuyó (2.64% vs. 2.86%) respecto al control. Existen varias teorías que pueden explicar la bajada observada en la grasa de la leche (Bauman y Griinari, 2003): a) Una deficiencia de acetato como resultado de la reducción de la digestión de la fibra, ya que éste es utilizado por la glándula mamaria para la síntesis de grasa; b) Al efecto de ciertos intermediarios de la biohidrogenación de ácidos grasos (AG), los AG-*trans*, que pueden ser los causantes de la bajada de grasa en leche. Uno de estos AG que se ha observado que tiene un efecto claro en la bajada de grasa en leche es el *trans*-10, *cis*-12 CLA. Las condiciones necesarias para que esto ocurra son: a) la presencia de AG insaturados de origen dietario; y b) que haya una alteración de los procesos ruminales normales de biohidrogenación. En consecuencia, parece que puede haber un efecto confundido o sinérgico entre varios factores: nivel de fibra dietario, pH ruminal e instauración de la grasa de la dieta. Existen trabajos donde se han estudiado los efectos del pH y del tipo de AG sobre la fermentación ruminal in vitro pero hay pocos en los que se haya estudiado este efecto en cultivo continuo. Por esta razón y para intentar explicar cuál pudo ser la causa de la bajada de grasa en leche observada en el experimento in vivo, se realizó este experimento estudiando el efecto del pH y del tipo de AG de la dieta sobre la fermentación microbiana ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores de doble flujo continuo en dos períodos consecutivos de 8 días (5 d de adaptación y 3 d de muestreo). La temperatura (39°C) y la tasa de dilución sólida (5%/h) y líquida (10%/h) se mantuvieron constantes. El primer día de cada periodo los fermentadores se inocularon con líquido ruminal de dos vacas canuladas alimentadas con una ración 60:40 forraje:concentrado. Los tratamientos se organizaron en un diseño factorial 2x2, siendo los factores principales el pH (6,4 vs 5,6) y el tipo de dieta utilizada [control (CTR) o lino (LIN)]. Los tratamientos fueron: dieta control, pH = 6.4 (CH); dieta control, pH = 5.6 (CL); dieta lino, pH = 6.4 (LH) y dieta lino, pH = 5.6 (CL). Ambas dietas tuvieron una relación F:C de 40:60, fueron similares en su composición básica y sólo se diferenciaron en el suplemento proteico (Tabla 1). Se suministraron 95 g MS/d dosificadas en tres veces al día a los fermentadores (0800, 1600, 2400 h). Durante los 3 días de muestreo se tomaron muestras a las 2, 4 y 8 horas post alimentación del efluente para medir la tasa de lipólisis y biohidrogenación ruminal, así como para realizar el perfil de AG. Se tomaron 500 ml de efluente al día durante los 3 días de muestreo para determinar N total, N amoniacal y AGV. Posteriormente parte de este efluente se liofilizó para analizar MS, MO, FND, FAD y bases púricas.

El diseño estadístico utilizado fue de bloques completos al azar con 4 tratamientos y 2 períodos, considerando el período como efecto bloque. Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED del SAS (V. 9.1, SAS Institute, Cary, NC). Las diferencias se declararon a $P < 0,05$.

Tabla 1. Composición en ingredientes de las dos dietas experimentales.

	CTR ¹	LIN
Ensilado de maíz	21.7	22.7
Alfalfa deshidratada (pellets)	20.9	21.9
Maíz	22.1	14.6
Harina de soja	8.5	11.3
Pulpa de remolacha	4.3	0.8
Granos de destilería	10.9	8.1
Aceite de soja	0.4	0.2
Premix	0.58	0.61
<i>Suplemento proteico</i>		
Semilla de lino extrusionada	-	6.2
Semilla de soja extrusionada	5.4	-
Maíz extrusionado	4.0	8.9
Cebada extrusionada	-	4.6
Jabones cálcicos de AG	1.2	-
Metionina bypass	0.04	0.02

¹CTR: dieta control, LIN: dieta lino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dietas contenían 28% FND, 17.9% proteína bruta y 6.1 de extracto etéreo. El contenido en ácidos grasos de la ración CTR y LIN fue 42 y 35.5% de C18:2, y 5.1 y 17.6% de C18:3, respectivamente. La reducción del pH resultó en los efectos esperados, y redujo la digestibilidad verdadera de la MO, de la FND y de la FAD. El efecto del pH sobre la digestión verdadera de la MS y MO fue mayor en la dieta L que en la dieta C (interacción $P < 0,03$).

El descenso en pH de 6.4 a 5.6 también resultó en una menor producción de AGV totales, AGV ramificados, N amoniacal, una menor proporción de acetato y butirato, de la relación acetato:propionato, y una mayor proporción de propionato y valerato. En cuanto al metabolismo del nitrógeno, la reducción del pH redujo la degradabilidad de la proteína, el flujo de N amoniacal, no amoniacal, dietario y bacteriano.

En cuanto al efecto de la dieta, no se observaron diferencias en la digestibilidad de la MS, MO o fibra. La dieta LIN redujo la producción de AGV en la dieta respecto a la dieta CTR, probablemente debido a que esta dieta LIN tenía una menor cantidad de CNF, pero la proporción de AGV no se vio afectada. En cuanto al metabolismo del nitrógeno, la dieta LIN aumentó el porcentaje y flujo de N amoniacal, la degradabilidad de la proteína bruta y la eficiencia de síntesis de proteína microbiana. Es posible que el proceso de extrusión del núcleo LIN resultara en una mejora en la disponibilidad de la proteína de lino. Sólo se observaron interacciones significativas en la digestibilidad de la MS y MO, y en la concentración de AGV ramificados.

Tabla 2. Efecto del pH y del tipo de dieta sobre la digestibilidad de la MS, MO, FND y FAD y sobre el metabolismo del nitrógeno.

	Tratamiento					P-valor		
	CH ¹	LH	CL	LL	SEM	Dieta	pH	Int. ²
Digestibilidad, %								
MS verdadera	50,33	53,15	51,57	48,11	0,90	0,73	0,06	0,01
MO verdadera	43,83	44,84	41,94	38,55	0,92	0,22	<0,01	0,03
FND	36,76	37,17	20,77	17,73	2,03	0,53	<0,01	0,42
FAD	42,70	43,24	20,32	17,70	2,35	0,66	<0,01	0,50
N amoniacal, %	6,69	8,99	1,35	4,64	0,53	<0,01	<0,01	0,37
Flujo de N, g/d								
Total	3,10	3,22	3,07	3,26	0,03	<0,01	0,90	0,21
Amoniacal	0,21	0,28	0,04	0,15	0,02	<0,01	<0,01	0,34
No amoniacal	2,89	2,94	3,02	3,12	0,04	0,10	<0,01	0,56
Dietario	1,39	1,31	1,59	1,69	0,06	0,82	<0,01	0,17
Bacteriano	1,51	1,62	1,43	1,43	0,05	0,31	0,02	0,23
Degradabilidad PB, %	45,01	52,49	37,08	38,99	2,20	0,06	<0,01	0,23
ESPM	38,21	40,43	38,22	41,31	1,01	0,02	0,67	0,67

¹CH: dieta control, pH = 6,4; LH: dieta lino, pH = 6,4; CL: dieta control, pH = 5,6; LL: dieta lino, pH = 5,6.

²Int: interacción dieta x pH.

Tabla 3. Efecto del pH y del tipo de dieta sobre la producción de AGV.

	Tratamiento					P-valor		
	CH ¹	LH	CL	LL	ESM	Dieta	pH	DietaxpH
AGV totales, mM	136,7	124,1	110,1	105,9	2,62	0,009	<0,01	0,14
Ramificados, mM	3,64	3,11	0,31	0,60	0,17	0,40	<0,01	0,01
AGV, mol/100mol								
Acetato	58,1	57,1	46,8	48,4	1,59	0,79	<0,01	0,28
Propionato	21,2	23,3	34,7	35,0	2,40	0,50	<0,01	0,59
Butirato	16,1	15,0	11,9	10,8	0,97	0,14	<0,01	0,95
Valérico	2,05	2,16	6,28	5,31	0,25	0,11	<0,01	0,05
Acetato:Propionato	2,76	2,46	1,38	1,42	0,15	0,39	<0,01	0,24

¹CH: dieta control, pH = 6,4; LH: dieta lino, pH = 6,4; CL: dieta control, pH = 5,6; LL: dieta lino, pH = 5,6.

CONCLUSIONES

Los efectos de la reducción del pH fueron los esperados. Asimismo, las diferencias en fermentación ruminal derivadas de la ración fueron las esperadas en base a la bibliografía disponible. La falta de efecto del tipo de dieta sobre la concentración de AGV totales y acético no apoyan la hipótesis de que la reducción de grasa observada en el trabajo previo in vivo pueda justificarse por la reducción en la disponibilidad de precursores de la síntesis de grasa láctea, y permite sugerir que los efectos pueden derivarse de la generación de ácidos grasos *trans* en la fermentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bauman, D.E., Griinari, J. M. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis, *Annu, Rev, Nutr*, 23, 203-227,

EFFECTOS DE LEVADURAS SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL EN UN SISTEMA DE FERMENTACIÓN DE CULTIVO CONTINUO

Moya, D., Calsamiglia, S., Ferret, A., Fuentes, M.C.

Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona,
08193 - Bellaterra, España. E-mail: Sergio.Calsamiglia@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de engorde intensivo de terneros utilizan cantidades elevadas de cereales. Sin embargo, dietas rápidamente fermentables incrementan la producción de ácidos grasos volátiles y reducen el pH ruminal provocando desordenes en la fermentación microbiana ruminal (como acidosis y meteorismo), lo que conlleva al incremento de los costes de producción (Nocek, 1997). Durante muchos años se han utilizado antibióticos ionóforos en los sistemas de producción intensivo de carne para prevenir o reducir la incidencia de desordenes digestivos, así como para incrementar la producción de propionato (más eficiente en términos de energía) y reducir la producción del metano (Bergen y Bates, 1984). Sin embargo, la prohibición del uso de estos antibióticos en la Unión Europea obliga a la investigación y desarrollo de aditivos que los sustituyan. Las levaduras se han posicionado recientemente como una buena alternativa en la UE. Su principal efecto es un aumento en el total de bacterias celulolíticas, resultando en una mayor digestión de la fibra, ingestión de alimento y mejora productiva.

El objetivo del experimento fue evaluar el efecto de la adición de levaduras y dos tipos de almidón (rápido vs lenta degradación) sobre la fermentación microbiana ruminal usando un sistema de fermentación in vitro de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de doble flujo continuo desarrollados por Hoover et al. (1976) para evaluar cuatro tratamientos en dos periodos, resultando así cuatro réplicas por cada tratamiento. El experimento se diseñó como bloques al azar con arreglo factorial 2 x 2, dónde los factores principales fueron la adición de levaduras vivas (Levucell®, Lallemand): sin levaduras (**SL**) vs 2×10^7 UFC de levaduras/g de dieta (**CL**); y el tipo de almidón: lentamente degradable (**LD**, 55.2 % maíz, 26.7 % cascarilla de soja, 7.8 % harina de soja, 0.5 % minerales, 0.1 % urea y 9.7 % heno de festuca,) vs rápidamente degradable (**RD**, 89.2 % cebada, 0.9 % minerales, 0.1 % urea y 9.8 % heno de festuca). Ambas dietas eran isoproteicas (16.6 ± 0.77 % proteína bruta) y fueron formuladas cumpliendo las recomendaciones del NRC (1996) para alimentar terneros de engorde. El inóculo provenía de dos terneras alimentadas con una dieta rica en concentrado. Se mantuvo constante la temperatura (38.5 °C) y las tasas de dilución de las fracciones líquidas y sólidas (12 y 5 %/h, respectivamente). Se permitió que el pH fluctuara libremente entre 6.6 y 5.5, y los límites se controlaron con infusiones de HCl (3 N) y NaOH (5 N). Se suministraron a cada fermentador 80 g/día de MS (3 porciones iguales a intervalos de 8 h) de alimento. El experimento consistió en 2 periodos consecutivos de 6 días de adaptación y 3 de muestreo. Cada día de muestreo se recolectaron muestras a las 1.5 horas después de la alimentación para determinar N soluble en ácido túngstico (N-TA) y en ácido tricloracético (N-TCA), actividad enzimática (celulolítica, amilolítica y proteolítica), concentración de N amoniacal y de ácidos grasos volátiles (AGV) totales e individuales; y a las 2 horas después de la alimentación para la determinación de DNA de *Megasphaera elsdenii* y *Streptococcus bovis* por PCR a tiempo real. Cada día de muestreo se recolectaron 500 ml de efluente. De los 1500 ml obtenidos en los 3 días, se extrajeron muestras para la determinación de N total, de N amoniacal, y para la determinación de AGV. Se liofilizaron 600 ml de efluente y se analizó la MS, MO, FND, FAD, y bases púricas. Las bacterias de la fase sólida y líquida fueron aisladas

de cada fermentador según Whitehouse *et al.* (1994) y Olubobokun y Craig (1990). Posteriormente fueron liofilizadas y analizadas para MS, MO, N y bases púricas. El diseño experimental utilizado fue de bloques completamente al azar con un arreglo factorial 2x2, con 4 tratamientos y 2 períodos, considerando el período como bloque. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (versión 9.1 SAS Institute, Inc., Cary, NC). Los resultados obtenidos los días de muestreo se analizaron usando el procedimiento MIXED para medidas repetidas, considerando el fermentador como el sujeto con una estructura de CS. Los resultados obtenidos del análisis de los efluentes y las curvas de pH fueron analizados con el procedimiento GLM. Ambos modelos incluyeron los factores tipo de almidón, adición de levadura y la interacción entre ambos como factores fijos.

RESULTADOS

La dieta C contenía 89.7% de MS, 16.1% de PB, 16.1% de FND y 6.7% de FAD, mientras que la dieta M, 88.1% de MS, 17.2% de PB, 27.8% de FND y 18.0% de FAD.

La Tabla 1 muestra los efectos de los tratamientos sobre la digestibilidad de los nutrientes y el metabolismo del nitrógeno, mientras que los efectos sobre el perfil de AGV, actividad enzimática, fluctuación de pH y población microbiana se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Efectos de la adición de levaduras y del tipo de almidón sobre la digestibilidad de los nutrientes y el metabolismo del nitrógeno.

Items	TRATAMIENTOS ¹					P-VALOR		
	SL	CL	LD	RD	EEM	Lev	Alm	Alm*Lev
Digestibilidad verdadera, %								
MS	61.9	63.1	60.8	64.3	2.72	0.40	0.04	0.63
MO	44.2	45.1	42.4	47.0	2.43	0.46	<0.01	0.87
Digestibilidad FND	27.2	26.0	43.4	9.74	7.54	0.74	<0.01	0.40
Digestibilidad FAD	43.0	43.1	57.0	29.2	10.9	0.98	<0.01	0.53
Flujo de N, g/d								
Amoniacal	0.13	0.10	0.03	0.20	0.01	<0.01	<0.01	0.09
No amoniacal	2.51	2.52	2.58	2.45	0.07	0.67	0.02	0.80
Bacteriano	0.72	0.81	0.73	0.80	0.08	0.05	0.14	0.27
Dietario	1.79	1.71	1.85	1.65	0.09	0.07	<0.01	0.33
Degradación PB, %	16.1	19.6	15.8	19.9	4.16	0.07	0.04	0.29
ESPM ²	21.3	23.4	22.3	22.3	2.78	0.09	0.98	0.25
N-NH ₃ , mg/dl	3.51	2.61	0.84	5.28	0.38	<0.01	<0.01	0.15
Péptidos, mg/dl	10.5	11.0	7.01	14.4	1.45	0.48	<0.01	0.96
Aminoácidos, mg/dl	0.83	1.30	1.69	0.45	0.32	0.20	0.01	0.84

1: Los tratamientos fueron: sin levaduras (SL), con levaduras (CL), almidón lentamente degradable (LD) y almidón rápidamente degradable (RD)

2: Eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g N/kg MO realmente digerida)

El tratamiento RD aumentó ($P < 0.05$) la digestibilidad de la MS y de la MO, el flujo de N amoniacal, la degradación de la PB, la producción de N amoniacal y de péptidos, el área bajo pH 6 y la población de *M. elsdenii*; y redujo ($P < 0.05$) la digestibilidad de la FND y FAD, el flujo de N dietario, la concentración de aminoácidos, de AGV ramificados y de propionato, la actividad enzimática amilolítica y celulolítica, y los minutos hasta el pH mínimo.

El tratamiento CL redujo el flujo de N amoniacal ($P < 0.05$) y de N dietario ($P < 0.10$), la concentración de N amoniacal ($P < 0.01$) y el área bajo pH 6 ($P < 0.05$); y aumentó el flujo de N

bacteriano ($P < 0.05$), la degradación de la PB ($P < 0.10$), la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana ($P < 0.10$), la actividad amilolítica ($P < 0.05$) y los minutos hasta pH mínimo ($P < 0.05$).

Sólo se encontraron interacciones entre los dos factores principales en el flujo de N amoniacal ($P < 0.10$) y el área bajo pH 6 ($P < 0.05$), dónde la combinación CL y RD redujo ambos parámetros mientras que CL y LD los aumentaron.

Tabla 2. Efectos de la adición de levaduras y del tipo de almidón sobre el perfil de ácidos grasos volátiles, actividad enzimática, fluctuación de pH y población microbiana.

Ítems	TRATAMIENTOS ¹				EEM	P-VALOR		
	SL	CL	LD	RD		Lev	Alm	Alm*Lev
AGV								
Totales, mM	88.5	92.7	89.9	91.4	8.01	0.42	0.76	0.75
Ramificados ² , mM	0.70	0.84	1.09	0.45	0.20	0.20	<0.01	0.97
Acetato, mol/100mol	47.6	49.8	50.5	47.0	6.27	0.58	0.40	0.73
Propionato, mol/100mol	25.3	25.9	26.8	24.3	1.24	0.46	0.02	0.31
Butirato, mol/100mol	21.9	19.4	19.7	21.6	5.05	0.44	0.57	0.86
Acetato:Propionato	1.88	1.96	1.90	1.94	0.26	0.66	0.83	0.45
Actividad enzimática								
Amilolítica ³	86.2	112.1	116.0	82.2	9.35	0.05	0.02	0.45
Celulolítica ³	215.3	221.0	250.0	186.3	26.04	0.84	0.07	0.42
Proteolítica ⁴	142.8	147.1	149.4	140.5	8.96	0.66	0.38	0.90
Minutos hasta pH mínimo	109.0	133.6	130.3	109.3	9.77	0.02	0.04	0.16
Área bajo pH 6	5.58	3.93	1.97	8.46	2.56	0.06	<0.01	0.02
PCR, pg DNA/100ng DNA total								
S. bovis	335.2	190.6	12.26	513.6	153	0.63	0.17	0.67
M. elsdenii	1510	1210	147.1	2572	250.2	0.42	<0.01	0.82

1: Los tratamientos fueron: sin levaduras (SL), con levaduras (CL), almidón lentamente degradable (LD) y almidón rápidamente degradable (RD)

2: Los AGVs ramificados incluyen Isobutirato e Isovalerato

3: Actividad amilolítica y celulolítica expresadas como nmoles de glucosa $\text{ml}^{-1} \text{min}^{-1}$

4: Actividad proteolítica expresada como mggramos de proteína de soja hidrolizada $\text{ml}^{-1} \text{min}^{-1}$

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran diferencias esperables en el perfil de fermentación microbiana ruminal entre los dos tipos de almidones utilizados. La adición de levaduras mejora el metabolismo del nitrógeno en el rumen, aumentando la eficacia en la síntesis de proteína bacteriana y reduciendo la caída del pH con dietas ricas en almidones rápidamente fermentables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hoover, W. H., et al. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.
 Nocek, J. E. 1997. J. Dairy Sci. 80:1005-1028.
 Bergen, W. G., y D. B. Bates. 1984. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
 Union Europea. 2003. Regulación (EC) No 1831/2003 del 22 Septiembre.
 NRC, 1996. Nat. Acad. Press. Washington, DC.
 Olubokun J. A., y W. M. Craig. 1990. J. Anim. Sci. 68:3360.
 Whitehouse, N. L., et al. 1994. J. Anim. Sci. 72:1335.

ESTUDIO *IN VITRO* DEL EFECTO DEL FLUJO DE FASE LÍQUIDA Y DEL PH SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN DIETAS CONCENTRADAS

Fondevila, M. y Pérez Estés, B.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. E-mail: mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La adecuación de las diversas alternativas *in vitro* propuestas para estimar la digestibilidad de los alimentos destinados a los rumiantes depende del grado de simulación de los parámetros fisiológicos que influyen en la fermentación microbiana de los alimentos, combinando la capacidad de control de éstos con la simplicidad del sistema. En este sentido, mientras los sistemas continuos (Hoover *et al.*, 1976) o semicontinuos (Czerkawski y Breckenridge 1977) son laboriosos y económicamente costosos, las alternativas más simplistas de valoración mediante desaparición del sustrato (Tilley y Terry 1963) o producción de gas (Menke y *et al.*, 1979; Theodorou *et al.*, 1994) obvian el control de aspectos importantes de la fermentación.

La limitación de estos sistemas sencillos se hace especialmente notable en su aplicación a la valoración de alimentos concentrados, para los que tanto el ritmo de tránsito de la fase líquida como el pH de incubación son determinantes de la magnitud de la actividad microbiana. El flujo de partículas solubles vehiculadas en la fase líquida puede afectar a la magnitud de la fermentación al reducir la disponibilidad de sustrato, pero por otra parte la renovación del medio puede favorecer la eficiencia de síntesis microbiana o inhibir mecanismos de retroinhibición enzimática. Por otra parte, el pH de incubación en estos sistemas se mantiene a niveles óptimos para la actividad microbiana (6,6- 6,9) mediante un tampón bicarbonato, pero estos valores están alejados del rango habitual en el rumen con dietas mixtas y concentradas. Además, la capacidad de este tampón para mantener un pH estable por debajo de 6,5 es limitada (Konh y Dunlap 1988), por lo que este parámetro cae rápidamente con concentrados como sustrato.

En este trabajo hemos aplicado un nuevo y simple sistema semicontinuo a la valoración del efecto del flujo de la fase líquida y de su ritmo de tránsito, así como del pH de incubación, sobre el grado y ritmo de fermentación de dietas mixtas con niveles altos de concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El sistema de incubación consta de un juego de botellas de unos 210 ml de capacidad total, provistas de dos bocas. Una de ellas se emplea para introducir el sustrato y, una vez sellada con un tapón de goma, para medir la presión interna como índice de la fermentación microbiana. La otra boca está provista de un filtro (150 μm de poro) controlado por una válvula externa, destinado al intercambio de la fase líquida. Para el funcionamiento del sistema, las botellas se llenaron con 140 ml de una mezcla de solución de incubación (Theodorou *et al.*, 1994) con un 20 % de líquido ruminal filtrado como inóculo. Se incubó 1,4 g de sustrato (mezcla 1:1 de heno de raygrás y grano de cebada, molidos a 1 mm) en cada botella, manteniéndose en baño de agitación a 38 °C durante 24 horas.

Se realizaron dos tandas de incubación con 12 botellas por tanda, en un diseño factorial 3 x 2 para el estudio del efecto de la renovación de la fase líquida (sin renovación, SR, y con flujos de 0,06 h⁻¹, FL y 0,10 h⁻¹, FR) y del pH de incubación (6,8 y 6,1), con dos repeticiones por tratamiento en cada tanda de incubación. El intercambio de fase líquida se estableció, en su caso, mediante la extracción de la parte proporcional de fase líquida cada 2 h durante las primeras 12 h, y cada 4 h de 12 a 24 h de incubación, y su sustitución por solución de incubación (sin inóculo ruminal). El pH del medio se fijó modificando la concentración de bicarbonato en la solución de incubación (0,111 y 0,029 moles de HCO₃⁻ para los pH 6,8 y 6,1, respectivamente). Inmediatamente antes del intercambio de fase líquida se registró la presión interna de las botellas, y se convirtió a volúmenes de gas mediante ecuaciones individuales para cada botella. Se determinó el pH del efluente a las 4, 8, 12 y 24 h, y se

muestreó el efluente a las 24 h de control para la determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), lactato y protozoos, y se determinó la desaparición de materia seca (dMS). Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando la tanda de incubación como bloque. Se establecieron cuatro contrastes ortogonales para comparar los tratamientos: efecto del intercambio líquido a pH 6,8 (SR frente a FL y FR a pH 6,8); efecto del intercambio líquido a pH 6,1 (SR frente a FL y FR a pH 6,1); efecto pH (6,8 frente a 6,1); y efecto del ritmo de renovación de fase líquida (FL frente a FR). Las diferencias entre medias se compararon mediante el test de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de todo el periodo de incubación, el pH del medio en los tratamientos que implicaron renovación de fase líquida se mantuvo constante dentro del rango esperado (entre 6,6 y 6,8 y entre 6,3 y 6,1 para los tratamientos a pH 6,8 y 6,1). En estos casos, el pH medio a las 24 h fue de 6,67 y 6,08, respectivamente, mientras que cuando no se renovó la fase líquida descendió a 6,37 y 5,45 para los tratamientos a pH 6,8 y 6,1. El valor final de pH en el tratamiento SR a pH 6,8 quedó por encima del considerado limitante para la actividad microbiana, no así para el tratamiento a pH 6,1. La Figura 1 muestra que el volumen de gas de fermentación producido por unidad de materia orgánica incubada aumentó cuando se permitió la renovación de la fase líquida, tanto a pH 6,1 como a 6,8 ($p < 0,001$), indicando que la renovación de líquido puede favorecer una mayor síntesis microbiana o evitar mecanismos de retroinhibición enzimática, o ambos, compensando la salida del sistema de material soluble potencialmente fermentable. Sin embargo, entre 8 y 20 h de incubación el aumento del ritmo de renovación de 0,06 a 0,10 h^{-1} redujo la producción de gas ($p < 0,05$). El volumen de gas producido fue afectado por el pH de incubación desde las 2 h ($p < 0,05$), siendo mayor a pH 6,8 que a 6,1.

De acuerdo con los resultados de producción de gas, en la dMS (Tabla 1) se observó una respuesta positiva a la renovación de medio líquido, tanto a pH 6,8 como 6,1 ($p < 0,01$), pero el aumento del ritmo de intercambio tendió ($p < 0,10$) a aumentar la dMS, probablemente a partir de las partículas solubles en la fase líquida. La dMS fue menor ($p < 0,05$) a pH 6,1 que a pH 6,8. La concentración de protozoos en el efluente fue mayor a pH 6,8 ($p < 0,05$), pero no fue afectada por la renovación de fase líquida. Hay que hacer constar que en algunas botellas (3 a pH 6,1 y 1 a pH 6,8) no se observaron protozoos al final de la incubación. Tanto la concentración de lactato como la de AGV disminuyó al permitir el flujo de fase líquida a pH 6,8 ($p < 0,01$) y a pH 6,1 ($p < 0,05$), siendo este efecto mayor al aumentar la tasa de renovación ($p < 0,10$ y $p < 0,05$, respectivamente). El perfil de AGV no se modificó por la renovación de líquido a pH 6,8, pero sí a pH 6,1 ($p < 0,05$), reduciéndose la proporción de acetato en beneficio del propionato. Aunque el pH bajo redujo la concentración de AGV ($p < 0,01$), no afectó a la de lactato. La reducción del pH también disminuyó la proporción de acetato y aumentó las de propionato y butirato ($p < 0,001$).

Estos resultados demuestran que los sistemas convencionales de producción de gas tienden a sobreestimar la fermentación microbiana de dietas mixtas o concentradas al valorarlas a pH 6,8 en lugar de a pH más acordes con los observados con dichas dietas. Además, la renovación de la fase líquida del medio y, en menor medida, el ritmo de ésta, afectan a los resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Czerkawski, J.W., Breckenridge, G., 1977. *Br. J. Nutr.* 38, 371-384.
Hoover, W.H., Crooker, B.A., Sniffen, C.J., 1976. *J. Anim. Sci.* 43, 528-534.
Kohn, R.A., Dunlap, T.F., 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 1702-1709.
Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W., 1979. *J. Agric. Sci. Camb.* 193, 217-225.
Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAlan, A.D.B., France, J., 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
Tilley, J.A., Terry, R.A., 1963. *J. Br. Grassl. Soc.* 18, 104-111.

Figura 1: Evolución de la producción de gas (ml/g materia orgánica, MO) durante el periodo de incubación, de acuerdo con el patrón de sustitución de fase líquida (sin intercambio, ● ○; 0.06 h⁻¹, ■ □; 0.10 h⁻¹, ▲ △) o con el pH del medio (6,8, símbolos negros; 6,1, símbolos blancos). Las barras superiores indican el error estándar de las medias.

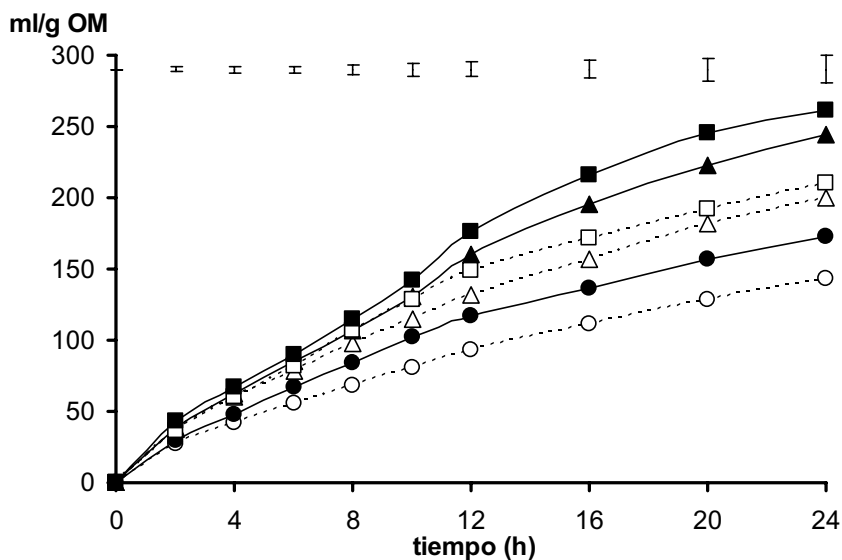


Tabla 1: Desaparición de materia seca (dMS), concentración de protozoos (log ml⁻¹) y concentración (mM) de lactato y ácidos grasos volátiles (AGV) junto con el perfil de AGV, a las 24 h de incubación. Se incluye la significación de los contrastes estadísticos.

	SI		RL		RR		e,e	contr.			
	6,8	6,1	6,8	6,2	6,8	6,2		1	2	3	4
dMS (%)	47,0	42,1	56,5	52,7	60,6	53,0	2,72	**	**	*	T
Protozoos	3,08	2,08	3,83	1,68	4,21	3,03	0,677	NS	NS	*	NS
Lactato	0,20	0,24	0,12	0,12	0,09	0,08	0,023	**	***	NS	NS
AGV	90,3	68,5	56,8	27,1	35,6	17,7	6,77	***	***	**	T
Acetato	66,1	60,3	66,7	55,7	71,1	55,2	1,57	NS	*	***	NS
Propionato	20,9	21,7	21,5	25,1	19,2	26,3	0,64	NS	***	***	NS
Butirato	10,8	15,6	10,6	17,7	9,2	17,7	1,03	NS	NS	***	NS

contrastes: 1, intercambio líquido a pH 6,8 (SI frente a RL y RR a pH 6,8); 2, intercambio líquido a pH 6,1 (SI frente a RL y RR a pH 6,1); 3, pH (6,8 frente a 6,1); 4, ritmo de renovación de fase líquida (RL frente a RR a ambos pH).

e.e.: error estándar; ***: p < 0,001; **: p < 0,01; *: p < 0,05; T: p < 0,10; NS: p > 0,10.

UTILIZACIÓN DE MALATO EN RACIONES A BASE DE TRIGO O UNA MEZCLA DE MANDIOCA Y CEBADA EN EL CEBO INTENSIVO DE CORDEROS (2): DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES

Mungói, M., Flores, C., Casals, R., Caja, G.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Grup de Recerca en Remugants
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

E-mail: ramon.casals@uab.es

INTRODUCCIÓN

La utilización de ácidos orgánicos como aditivo en el pienso de rumiantes tiene la finalidad de mejorar el funcionamiento ruminal (Martín, 1998) y, en particular, disminuir la acumulación de ácido láctico en el rumen. Los efectos de los ácidos orgánicos sobre la fermentación ruminal son similares a los obtenidos con los ionóforos (Castillo *et al.* 2004). Sin embargo, el modo de acción de los ácidos orgánicos es diferente ya que estimulan el crecimiento de las bacterias utilizadoras de ácido láctico (Nisbet y Martín, 1993). Como resultado, el pH ruminal aumenta y reduce el riesgo de acidosis. Un mayor pH ruminal puede estabilizar la fermentación ruminal (Montaño *et al.* 1999) y mejorar la degradación de nutrientes, lo que fue observado *in vitro* (Carro *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003; Gómez *et al.*, 2005). Sin embargo, en estudios *in vivo*, la inclusión de malato en el pienso de corderos (Cuesta *et al.*, 2003; Flores, 2004; Carro *et al.*, 2006) ha dado respuestas contradictorias, poniendo en evidencia la necesidad de profundizar los estudios relacionados con el mismo.

Como continuación a un trabajo anterior sobre los efectos del malato en los rendimientos productivos (Mungói *et al.*, 2007), los objetivos del presente trabajo fueron estudiar el efecto de la adición de malato sobre la digestibilidad de los nutrientes, y el pH y consistencia de las heces de corderos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 corderos machos destetados de raza Manchega (7 semanas de vida, 13,2 kg PV) de la granja experimental del SIGCE de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona, en Bellaterra, alojados en cajas de digestibilidad. Los factores experimentales fueron la adición o no de malato (Rumalato®, Norel-Nature S.A., 0 o 0,2 % del concentrado) y la fuente de almidón (trigo o mandioca-cebada) utilizada en el concentrado, tal y como se ha descrito en la experiencia anterior (Mungói *et al.*, 2007).

Los corderos fueron asignados al azar a los 4 concentrados experimentales (2 corderos por tratamiento) según un diseño en cuadrado latino 4 × 4, con 4 periodos experimentales y 4 tratamientos: 1) **Trigo**; 2) **Trigo con Malato**; 3) **Mandioca-Cebada**, y 4) **Mandioca-Cebada con Malato**. Además de los concentrados experimentales, los corderos recibieron paja de cebada y agua. Cada periodo experimental fue de 21 días (14 días de adaptación y 7 de medición), en los que se controló la ingestión de pienso y paja, ofrecidos *ad libitum*, la excreción de heces, el PV de los corderos y se recogieron muestras de alimentos (ofrecido y rechazado) y de heces. En cada periodo experimental, a partir de las muestras de alimentos y de heces, se tomó diariamente una muestra representativa (10%) de cada una de ellas, y se congeló la de heces a -20 °C, hasta su posterior análisis. Las muestras de alimentos y heces se molieron a través de un tamiz de 1 mm, y se analizaron de MS, cenizas y PB según AOAC (1995). Para la FND y la FAD (Van Soest *et al.*, 1991), en análisis secuencial, se usó un equipo ANKOM²⁰⁰ (Ankom Technology, Fairport, NY, EEUU). La EB se determinó mediante bomba calorimétrica (IKA Calorimeter C-4000, Janke & Hunkel, Analicnetectenik, Heitersheim, Germany).

Los resultados se analizaron utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (v.8.2, SAS Institute, Cary, Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguno de los tratamientos afectó el aumento diario de peso (ADP), el índice de conversión, ni la ingestión total de MS, aunque el consumo de paja fue inferior en los corderos que recibieron mandioca-cebada ($P < 0,04$) que en los que recibieron trigo (**Tabla 1**). Por otro lado, y a pesar de la falta de efecto del malato sobre el crecimiento, los valores de ADP fueron numéricamente superiores en el caso del trigo con malato, e inferiores en el caso de mandioca-cebada con malato, de acuerdo con una leve tendencia a la interacción ($P < 0,17$) entre el malato y el tipo de almidón. Estos resultados, junto a la falta de variación en el índice de conversión son concordantes con los obtenidos en la experiencia previa de Mungói *et al.* (2007).

Tabla 1. Efectos del malato (**M**) y del tipo de almidón (**A**) en el pienso sobre el crecimiento y la digestibilidad de corderos en cebo

Item	Tratamiento ¹					Efecto (P<)		
	T	T+M	MC	MC+M	±EEM	M	A	M x A
PV medio, kg	26,5	27,0	26,6	25,7	0,50	0,71	0,23	0,18
ADP, g/d	233	304	300	254	57,7	0,77	0,83	0,17
Ingestión, kg MS/d								
Pienso	0,908	0,933	0,979	0,937	0,0625	0,84	0,41	0,46
Paja	0,055	0,068	0,047	0,050	0,0083	0,20	0,04	0,39
Total	0,963	1,001	1,026	0,986	0,0627	0,98	0,59	0,39
IC, Total kg MS/kg PV	4,46	3,59	4,32	4,44	0,692	0,59	0,61	0,49
Digestibilidad, g/kg								
MS	790	759	794	791	10,9	0,03	0,03	0,08
MO	804	775	819	815	9,5	0,02	0,001	0,07
PB	756	727	761	752	12,1	0,13	0,21	0,43
FND	454	408	475	457	19,7	0,12	0,09	0,47
FAD	423	332	405	374	19,6	0,006	0,54	0,14
EB	838	819	855	854	13,5	0,49	0,07	0,52
Heces								
pH	7,26	7,62	7,90	7,81	0,152	0,38	0,02	0,19
Consistencia ²	2,21	2,60	2,89	3,14	0,192	0,11	0,01	0,73

¹ T = trigo, T+M = trigo con malato, MC = mandioca y cebada, MC+M = mandioca y cebada con malato.

² 1 = diarrea, 2 = blanda, 3 = ideal, 4 = consistencia firme de las heces.

Al adicionar malato se redujeron las digestibilidades de la MS, la MO, y la FAD ($P < 0,05$) y se observaron tendencias ($P < 0,13$) a la baja en las digestibilidades de la PB y la FND, lo que puede justificar la falta de efectos en el ADP y en el índice de conversión. La reducción de la digestibilidad de la MS y la MO a causa del malato fue más marcada en los corderos que recibieron pienso a base de trigo, observándose en estos casos una clara tendencia ($P < 0,08$) a la interacción malato por tipo de almidón.

Las diferencias observadas en las digestibilidades de la MS y la MO de las dietas con malato podría deberse a la reducción ($P > 0,006$) de la digestibilidad de la FAD, posiblemente relacionada también con el aumento numérico ($P < 0,20$) de la ingestión de paja, cuyos aumentos más marcados correspondieron a animales que recibieron pienso a base de trigo ($P > 0,04$). La reducción en digestibilidad de FAD, podría indicar que la concentración de ácido málico no fue suficiente para estimular la actividad fibrolítica en el rumen como resultado de la adición de malato a los piensos. Por el contrario, Sniffen *et al.* (2006), en estudios *in vitro*, observaron un aumento de la digestibilidad de la FAD al adicionar malato.

En otros estudios previos (Flores, 2004), también en corderos y con una dosis de malato similar, se detectaron aumentos de la digestibilidad de la EB y de la proteína, lo que justificaría los menores índices de conversión obtenidos. Sin embargo, Cuesta *et al.* (2003) y Carro *et al.* (2006), utilizando dosis mayores de malato en corderos, no encontraron efectos atribuibles al mismo sobre la digestibilidad de los nutrientes.

La utilización de concentrados en base a mandioca-cebada incrementó ($P<0.05$) las digestibilidades de la MS y la MO, y tendió a aumentar la de la FND ($P<0.09$) y la de la EB ($P<0.07$). De igual forma, el efecto del tipo de almidón ($P<0.02$) sobre el pH y la consistencia de las heces fue más marcado que el del malato, observándose valores más elevados de pH (7,44 vs. 7,86) y de consistencia de heces (2,41 vs. 3,02) con dietas a base de mandioca-cebada que con trigo, lo que podría ser indicador de una dieta menos acidogénica y de un mejor equilibrio nutricional. Flores *et al.* (2003) observó que el pH de las heces fue más elevado en corderos alimentados con cebada que en los alimentados con maíz.

En conclusión, la adición de malato (0.2% en materia fresca) disminuyó la digestibilidad de algunos nutrientes (MS, MO y FAD) de dietas a base de trigo o de mandioca y cebada, sin alterar la velocidad de crecimiento ni el IC. Los concentrados a base de mandioca-cebada permitieron obtener mayores digestibilidades de MS y de MO, y un mayor nivel de pH que los formulados a base de trigo. Las interacciones observadas entre el malato y la fuente de almidón hacen pensar que las respuestas a la suplementación con malato pueden ser muy variables, dependiendo del tipo de ración en la que se incluya. Otros factores a considerar, como la dosis de malato utilizada, podrían condicionar la respuesta obtenida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical. 1995. (16th ed.). AOAC, Arlington, VA.
- Carro, M. D., López, S., Valdés, C., Ovejero, F. J. 1999. *Anim. Feed Sci. Technol.* 79:279–288.
- Carro, M. D., Ranilla, M.J. 2003. *Br. J. Nutr.* 89:279–288.
- Carro, M. D., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:405–410.
- Castillo, C., Benedito, J. L., Méndez, J., Pereira, V., López-Alonso, M., Miranda, M., Hernández, J. 2004. *Anim. Feed Sci. Technol.* 115:101–116.
- Cuesta, A., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., Carro, M.D. 2003. *ITEA. Prod. Animal.* 24 (vol. extra): tomo II, 762–764.
- Flores, C., Caja, G., Romero, R., Mesía, J. 2003. *ITEA. Prod. Animal.* 24 (vol. extra): tomo II, 747–749.
- Flores, C. 2004. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, 106 pp.
- Gómez, J. A., Tejido, M. L., Carro, M. D. 2005. *Br.J. Nutr.* 93:479–484.
- Martin, S. A. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 3123–3132.
- Montaño, M. F., Chai, W., Zinn-Ware, T. E., Zinn, R. A. 1999. *J. Anim. Sci.* 77:780–784.
- Mungó, M., Casals, R., Flores, C., Caja, G. 2007. *ITEA Prod. Animal* (vol. extra), **en prensa**.
- Nisbet, D. J., Martin, S. A. 1993. *Curr. Microbiol.* 26:133–136.
- SAS. 2000. User's guide. (version 8.1). SAS inst. Inc. Cary. NC, USA.
- Sniffen, C. J., Ballard, C. S., Carter, M. P., Cotanch, K. W., Danna, H. M., Grant, R. J., Mandevbu, P., Suekawa, M., Martin, S.A. 2006. *Anim. Feed Sci. Technol.* 127:13–31.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.

EXCRECIÓN DE NITRÓGENO EN VACAS LECHERAS ALIMENTADAS CON ENSILADOS DE HIERBA CONSERVADOS CON ÁCIDO FORMICO O ENSILADO DE MAÍZ

Salcedo Díaz, G.

Dpto. de Tecnología Agraria del I.E.S. "La Granja", 39792 Heras, Cantabria

E-mail: gregoriosalce@ono.com

INTRODUCCIÓN

Los modelos de producción de leche se orientan a sistemas cada vez más intensivos, con elevados aportes de concentrados ricos en nitrógeno (N), nutriente con importante repercusión ambiental. Por el contrario, los basados en la utilización de forraje verde, utilizan una fuente de proteína más barata y abundante, pero de elevada degradabilidad ruminal (Salcedo, 2000) y consiguiente bajo aprovechamiento del N. Su alto consumo favorece la acumulación de amoníaco en rumen, problemas reproductivos y baja eficiencia en la ganancia de peso en novillas (McCormick *et al.*, 1999); modificaciones en la composición química de la leche (Hermansen *et al.*, 1999); pérdidas de proteína en heces y orina, pudiendo alcanzar el 80% de la proteína ingerida (Bruchem *et al.*, 1991). En los países del arco atlántico, el porcentaje de nitrógeno recuperado en leche respecto al ingerido oscila de 12 a 20 kg/t de leche (Vérité y Delaby, 2000); mientras, el procedente de las heces y orina representa el 30% y 50% respectivamente.

El objetivo del presente trabajo se centra en estudiar las respuestas en la excreción de N en vacas lecheras alimentadas con ensilados con diferentes conservantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dietas y animales

Los ensilados que componen las diferentes dietas son de hierba conservada con ensilado de maíz al 10% (EHM); ácido fórmico, 3,5 l/t de forraje fresco (EHAF) o sin adición de conservante (EHSC) y ensilado de triticale fermentado con ensilado de maíz (ETriEM) al 10% sobre material fresco. Todos los ensilados fueron recolectados al inicio del espigado, previo presecado de 24 horas y fermentados en silo plataforma. En el primer experimento, se utilizaron dos vacas, alimentadas con EHM y ETriEM (35% del total de la materia seca); en el segundo fueron implicadas tres vacas alimentadas con EHM; EHAF y EHSC *ad limitum* (Tabla 1).

Tabla 1
Características de los animales y composición de las dietas

Ensilado	1º Experimento		2º Experimento		
	EHEM	ETriEM	EHEM	EHAF	EHSC
Peso vivo (kg)	624±18	624±18	627±22	627±22	627±22
Días en leche (d)	135±24	135±24	88±55	88±55	88±55
Leche (kg/d)	19,7±3,58	19,7±3,58	22±2,1	22±2,1	22±2,1
Alimentos (kg MS/d)					
Ensilado hierba o triticale	5,45	5,34	14,9	16,2	14,2
Paja	0,89	0,89	-	-	-
Heno de alfalfa	1,84	1,84	-	-	-
Hierba verde	5,24	4,73	-	-	-
Maíz deshidratado	2,8	2,8	-	-	-
Concentrado	3,56	3,56	3,6	3,6	3,6

EHEM: ensilado de hierba conservado con ensilado de maíz; **ETriEM:** ensilado de triticale conservado con ensilado de maíz; **EHAF:** ensilado de hierba conservado con ácido fórmico; **EHSC:** ensilado de hierba sin conservante

El concentrado suplementado consistió en una mezcla de 82,4% de harina de cebada; 14,1% harina de soja; 114% fosfato bicálcico; 1,9% bicarbonato sódico y 0,40% de corrector vitamínico-mineral. En ambos casos, las vacas fueron alojadas en nave metabólica, cuyas características productivas y alimentos ofrecidos en cada uno de los mismos vienen reflejados en la Tabla 1. En ambos experimentos la ración

forrajera fue ofrecida en dos tomas (9,30 a.m. y 17 p.m.) y el concentrado (10 a.m.) en una sola.

Diseño experimental

Cada experimento fue desarrollado como un cuadrado latino, implicando dos vacas por dos ensilados en el primero y, tres por tres en el segundo. Cada período experimental y dentro de cada experimento fue de 20 días; 15 de adaptación y 5 de control de la oferta, rechazos, excreción de heces y orina. La producción de leche se registró durante los días de control, tomándose alícuotas de 50 ml del ordeño de mañana (7 a.m.) y de tarde (16 p.m.) para analizar su contenido en nitrógeno. En todo momento las vacas dispusieron de agua y piedras de sales minerales más 65 g de bicarbonato sódico. La ingestión del alimento ofrecido y rechazado, excretas sólidas y líquidas fueron pesadas diariamente, al igual que el contenido de N de la oferta, heces, orina y leche. Esta última fue recogida mediante sonda vesical tipo Foley. Cada variable fue analizada como dos cuadrados latinos con el PROC MIXED de SAS (1988).

RESULTADOS Y DISCUSION

La composición química de los ensilados aparece reflejada en la Tabla 2. La adición de ensilado de maíz al ensilado de hierba incrementó un 20% la materia seca ($P<0,05$) respecto al conservado con ácido fórmico (EHAF), sin diferencias entre éste último y el ensilado sin conservante (EHSC). Por el contrario, la proteína bruta, la degradabilidad teórica de la proteína y la fracción soluble fue inferior en el conservado con ensilado de maíz, posiblemente debido a la inoculación de bacterias ácido lácticas procedentes del mismo ensilado de maíz, que favorecieron menor concentración de N-amoniaco en el ensilado (Tabla 1), y la mayor en ETriEM.

Tabla 2

Composición química de los ensilados y concentrado empleado

Nutriente	EHEM	ETriEM	EHAF	EHSC	Concentrado
MS (%)	35,3±0,05	26,2±0,22	28,2±0,06	28,2±0,08	90,7
MO (%)	87,1±0,06	87,9±0,12	88,8±0,06	89,3±0,05	90,16
PB (% sms)	15,6±0,04	14,3±0,05	16,3±0,01	16,1±0,03	17,02
DTPB (% PB)	68,3±0,47	71,4±0,33	73,5±0,53	75,4±0,36	75,4
aPB (% PB)	36,5±0,37	42,87±0,28	39,8±0,38	40,9±0,18	24,6
FAD (% sms)	32,7±0,38	36,3±0,15	33,2±0,03	33,5±0,07	7,3
FND (% sms)	48,9±0,14	54,4±0,11	49,2±0,04	50,2±0,05	19,2
EM (MJ/kg MS)	9,26±0,009	8,68±0,003	10,03±0,05	9,83±0,02	13,22
pH	3,85±0,003	3,77±0,005	4,06±0,008	4,23±0,008	-
N-NH3 (% N total)	13,6±0,09	8,25±0,02	15,3±0,05	18,1±0,01	-
MOD <i>in vivo</i> (% sms)	57,9±0,06	54,3±0,15	62,7±0,34	61,4±0,12	-
Almidón	3,06±0,03	2,12±0,03	1,82±0,02	0,81±0,02	49,2

EHEM: Ensilado de hierba conservado con ensilado de maíz; **ETriEM:** Ensilado de triticale conservado con ensilado de maíz; **EHAF:** Ensilado de hierba conservado con ácido fórmico; **EHSC:** Ensilado de hierba sin conservante.

MS: Materia seca; **MO:** Materia orgánica; **PB:** Proteína bruta; **DTPB:** Degradabilidad teórica de la proteína bruta; **aPB:** Fracción soluble de la proteína bruta; **FAD-FND:** Fibra ácido y neutro detergente; **EM:** Energía metabolizable; **MOD:** Materia orgánica digestible

La ingestión de N resultó diferente entre ensilados ($P<0,001$), mayor con EHAF y EHEM ($P<0,05$) en el segundo experimento, sin diferencias en el primero (Tabla 3), donde las concentraciones medias de N expresadas en tanto por ciento sobre materia seca ingerida fueron de 2,36 y 2,47 en el primer y segundo experimento respectivamente. Estos porcentajes resultan coincidentes con el NRC (2001) para producciones de 20-22 kg de leche, no así la proteína de la dieta, obteniéndose un valor medio del 15,1% sobre materia seca.

El N procedente de las heces fue diferente entre experimentos ($P<0,001$), con excretas medias de 178 g/d en el primero y 167 g/d en el segundo. Para los ensilados del primer experimento, no se apreciaron diferencias entre los de hierba y triticale conservados con ensilado de maíz, atribuible a la ingestión de hierba verde de mayor contenido en proteína degradable (Salcedo, 2000). Sin embargo, en el segundo experimento y como única fuente forrajera ensilado de hierba, la excreción diaria de N se reduce significativamente, e incrementando el de la orina. En términos porcentajes

y respecto al N ingerido, el de las heces fue similar en el primer experimento (38,2% en EHEM y 38% con ETriEM) y menores, ($P < 0,001$) en el segundo, (33,4%; 32,8% y 36,4% para EHEM, EHAF y EHSC respectivamente), atribuido unas necesidades en producción de leche inferiores. No obstante, entre experimentos, el consumo de N superó en 22% y 27% en el primero y segundo respecto al NRC (2001), atribuidos a factores de calidad de los ensilados. Al relacionar el N ingerido en relación al excretado en heces, no se apreció correlación alguna, imputable al estrecho margen en el consumo de N (461 g con EHSC y 506 g con EHAF) en el segundo experimento.

Tabla 3
Ingestión y excreción de N según el conservante empleado

	1º Experimento		2º Experimento			Significación	
	EHEM	ETriEM	EHEM	EHAF	EHSC	et	Sig
MS ingerida (kg/d)	19,8b	19,75b	21,0a	20,7a	17,8c	0,20	***
N ingerido (% sms)	2,38c	2,34d	2,38c	2,44b	2,6a	0,012	***
N ingerido (g/d)	473b	463b	501a	506a	461b	4,28	***
N Heces (g/d)	181a	175ab	168bc	166c	168bc	1,51	***
N Orina (g/d)	152c	145d	164b	153c	174a	1,61	***
N Heces + Orina (g/d)	333a	316c	332ab	319bc	342a	2,45	***
N Leche (% ingerido)	21,75a	20,92a	18,25b	18,36b	17,48b	0,29	***

De igual modo, el N de la orina fue diferente entre experimentos ($P < 0,001$), con excreciones medias diarias de 148 y 164 g en el primer y segundo experimento respectivamente, y ($P < 0,001$) entre ensilados, mayor con el ensilado de hierba sin conservante (EHSC), atribuido a la mayor concentración de N-NH₃ (Tabla 2), tal y como señala Haig *et al.*, (2002), quienes observaron incrementos del N respecto a la ingestión de proteína soluble. En términos porcentuales y respecto al N ingerido, la excreción es mayor en el ensilado de hierba sin conservante ($P < 0,001$), lo que equivale a 14,5% y 16,9% referente a EHEM y ETriEM del primer experimento y 13,2% y 19,6% para EHEM y EHAF respectivamente del segundo.

Entre experimentos, el porcentaje de N excretado en leche respecto al ingerido, fue superior en el primero ($P < 0,001$), posiblemente atribuido a la mayor disponibilidad de carbohidratos fermentables en rumen procedentes de la hierba verde y del maíz deshidratado, que favorecería un mejor equilibrio a nivel ruminal, sin diferencias en el segundo experimento (Tabla 3). En cualquier caso, los resultados obtenidos para el primer experimento resultan semejantes a los obtenidos por Salcedo (2006) en explotaciones intensivas, e inferiores en el segundo.

Como conclusión podemos señalar que la adición de ácido fórmico o ensilado de maíz a ensilados de hierba, respecto a la no adición de conservantes, la suma del N de heces y orina incrementa significativamente, reduciéndose la eficiencia en la conversión de N en leche.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BRUCHEM, J.B.; M.W. BOSH; S.J. OOSTING. 1991. *Utilisation of Local feed Resources by Dairy Cattle*. (Eds. G.E.Groen and J.V.Bruchem). Wageningen, The Netherlands. EAAP Publications No 84, Wageningen Press. pp.99-101.
- McCORMICK, M.; D. FRENCH; T. BROWN; G. CUOMO; A. CHAPA; J. FERNANDEZ; J. BEATTY; D. BLOUMI, 1999. *J. Dairy Sci.* **82**:2697-2708.
- HAIG, P.; T. MUTSVANGWA; SPRATT.; B. McBRIDE. 2002. *J. Dairy Sci.* **5**:1208-1217.
- HERMANSEN, J.E.; S. OSTERSEN; N.C. JUSTESEN; O. AAES. 1999. *J. Dairy Resch* **66**:193-205.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2001. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press., Washington, D.C.
- SALCEDO, G. 2000. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* Vol 15 (3):125-135.
- SALCEDO, G. 2006. Consejería de Medio Ambiente del Gobierno de Cantabria. ISBN: 84-935016-1-1.
- SAS, 1988. SAS/STAT User's Guide. SAS-Institute Inc.; Cary, NC.
- VERITE, R.; DELABY, L., 2000. *Ann. Zootech.* **49**:217-230.

POTENCIAL DE NUEVOS INSTRUMENTOS NIR PARA EL CONTROL SOBRE LA LÍNEA DEL PROCESO DE PIENSOS COMPUESTOS

Fernández de Ahumada, E., Guerrero-Ginel, J.E., Pérez-Marín, D., Garrido-Varo, A.
Departamento de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y
de Montes. Universidad de Córdoba.

Campus Rabanales, Edif. Producción Animal, 14014, Córdoba. g82feae@uco.es

INTRODUCCIÓN

La extensa normativa existente en referencia a la fabricación y circulación de piensos compuestos, las crecientes presiones de la industria para incorporar sistemas ágiles de aseguramiento de la calidad y de trazabilidad a lo largo de toda la cadena de producción (CESFAC, 2004) y el interés de los fabricantes por tener su proceso bajo control ponen de manifiesto la necesidad de una innovación analítica que permita abordar los nuevos retos con estrategias diferentes a las clásicas de inspección y control documental. La Espectroscopía de Infrarrojo Cercano (Tecnología NIRS), por su potencial para proporcionar información cuantitativa y cualitativa de materias primas y productos con rapidez y sin necesidad de preparación ni destrucción de muestra (Garrido *et al.*, 2003), se plantea como una alternativa que podría jugar un papel relevante en el control global del proceso de fabricación de piensos compuestos.

La forma tradicional de uso de la tecnología NIRS a nivel de fábrica de piensos ha consistido en el muestreo manual y/o automático y posterior análisis de muestras fuera de la línea de producción. Esto es lo que se denomina control de calidad at-line, para el que la tecnología NIRS ha mostrado su capacidad de aplicación en materias primas y piensos, posibilitando la predicción instantánea de atributos tales como humedad, proteína, fibra, etc., así como del porcentaje de ingredientes (Garrido *et al.*, 2002; Pérez *et al.*, 2004). Sin embargo, si bien, últimamente ha habido un interés creciente por el desarrollo de aplicaciones on-line e in-line, (Paul, 2004) y se han producido importantes avances en instrumentación (Shenk, 2004), en materia de piensos son escasas las aplicaciones NIR referentes al control sobre la línea del proceso. Durante las Jornadas de ITEA celebradas en 2005, se mostraban resultados de repetibilidad y optimización de la señal espectroscópica NIRS de piensos analizados en movimiento (Fernandez de Ahumada *et al.*, 2005). El objetivo de este trabajo es mostrar la efectividad de instrumentos NIR portátiles, para realizar un control del proceso de fabricación de piensos compuestos.

MATERIAL Y MÉTODOS

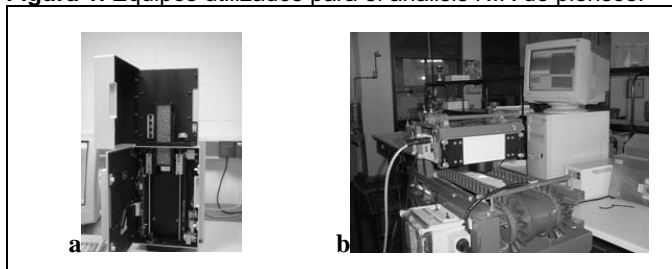
Se utilizaron 400 muestras de pienso de diferentes especies (aves, porcino, vacuno, ovino, caprino, conejos, perros y gatos) y formas de presentación (pellets de diversa granulometría, harinas y extrusionados), asegurando así una elevada variabilidad en relación a los distintos atributos físico-químicos de las muestras. El análisis NIRS se realizó utilizando el producto sin moler, en su presentación original.

Para simular el análisis NIRS sobre la línea de proceso se utilizó un equipo de red de diodos acoplado a un prototipo que integra una tolva de recepción, una cinta transportadora y una estructura para la colocación del instrumento (Figura 1b). Para realizar una comparación con instrumentos NIR característicos del control de calidad en laboratorio, las muestras también se analizaron con un equipo monocromador de red de difracción móvil (Figura 1a) dotado de una cápsula rectangular con ventana de cuarzo de 4,7 cm x 20 cm.

El equipo de red de diodos presenta un rango de medida entre 400 y 1700 nm, mientras que el rango del equipo monocromador alcanza los 2500 nm.

El tratamiento de datos se realizó con el software WinISI v.1.5 (ISI, 2000) y consistió en una regresión por mínimos cuadrados parciales modificada (MPLS). Asimismo, los espectros fueron pre-tratados mediante derivación y tratamiento para la reducción del efecto *scatter*. Las calibraciones se realizaron para el rango de longitudes de onda común a ambos equipos (400-1700nm). Los estadísticos utilizados para evaluar las ecuaciones de calibración fueron el coeficiente de determinación múltiple (R^2), el error típico de validación cruzada (ETVC) y el RPD, ratio entre la desviación típica (DT) y el ETVC.

Figura 1. Equipos utilizados para el análisis NIR de piensos.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 recoge las características de composición del colectivo de calibración así como los estadísticos de las ecuaciones desarrolladas.

Tabla 1. Estadísticos de composición y de calibración para la predicción de constituyentes analíticos (mg g^{-1}) e ingredientes (%). N=400.

Constit.	Equipo	Media	DT	Rango	ETVC	R ²	RPD
Proteína	Laboratorio	18.06	3.14	12.40-29.70	0.65	0.96	4.83
Proteína	Cinta	17.94	3.02	12.40-28.70	0.70	0.95	4.31
Fibra	Laboratorio	7.41	4.43	1.70-18.96	0.58	0.98	7.67
Fibra	Cinta	7.38	4.35	1.70-18.96	0.85	0.96	5.12
Girasol	Laboratorio	5.06	7.46	0-25.10	1.27	0.97	5.88
Girasol	Cinta	4.02	6.43	0-25.10	0.98	0.98	6.52
Corrector	Laboratorio	0.26	0.14	0-0.60	0.06	0.77	2.06
Corrector	Cinta	0.25	0.14	0-0.50	0.06	0.76	2.03

Los constituyentes proteína y fibra bruta fueron elegidos por presentar una gran variación entre ingredientes y entre lotes de la misma fórmula y por tanto, por ser considerados dos constituyentes que deben ser controlados en la gran mayoría de los ingredientes y fórmulas y con la mayor frecuencia posible. Las ecuaciones de calibración NIR, tanto para el instrumento monocromador como para el instrumento de red de diodos situado sobre cinta transportadora, presentan una excelente capacidad predictiva, tanto por lo elevado de los valores del coeficiente de determinación ($R^2 > 0,9$) como de los valores del estadístico RPD. Si bien en el caso del análisis de piensos en movimiento y con equipo de red de diodos, los errores estimados mediante el estadístico ETVC, son ligeramente superiores a los obtenidos con el instrumento monocromador y con pienso analizado en forma estática, los valores de RPD obtenidos con el equipo de red de diodos se pueden considerar apropiados para el control de calidad a nivel de la industria, ya que superan el valor de 3 recomendado (Williams y Sobering, 1996). Además los errores obtenidos para proteína y fibra en el equipo portátil de red de diodos se encuentran dentro del rango de valores obtenidos por otros autores (Aufrère *et al.*, 1996; Büchmann y Cowe, 2002; Xiccato *et al.*, 2003) con instrumentos monocromadores.

En lo que respecta a la composición en ingredientes y aditivos, para este estudio preliminar, se eligieron el girasol y el corrector minero-vitaminico, representados en el pienso en proporciones muy diferentes (tabla 1) y para los cuales trabajos previos habían mostrado la posibilidad de predicción NIR en instrumentos monocromadores (Xiccato, *et al.*, 2003; Pérez-Marín *et al.*, 2004, 2005).

Como se pone de manifiesto en la tabla 1, el equipo portátil de red de diodos instalado sobre una cinta en movimiento presenta una capacidad predictiva similar a la alcanzada por el equipo monocromador, para la predicción de los porcentajes de girasol y de corrector presentes en una fórmula.

Xiccato *et al.* (2003) utilizando un equipo monocromador, obtuvieron valores del RPD para girasol (1,36) muy inferior a los obtenidos en el presente trabajo (5,88 y 6,52) y por Pérez-Marín *et al.* (2004) (RPD=7,2) y (2005) (RPD=6,88). Las diferencias entre autores son debidas a diferencias en el tamaño y estructura del colectivo de calibración y en el método

de regresión utilizado. En lo que respecta al corrector minero-vitamínico, los coeficientes de determinación próximos a 0,8 deber ser considerados favorables si se tiene en cuenta que se trata de un constituyente de muy estrecho rango y de presencia minoritaria. Es de esperar que las calibraciones mejoren al incrementar el número de muestras y disponer de una cobertura adecuada de todo el rango, así como al utilizar métodos de regresión no-lineales (Pérez-Marín *et al*, 2005).

Los resultados obtenidos muestran que equipos muy diferentes a los tradicionalmente utilizados a nivel de laboratorios NIRS, tanto en lo referente a su diseño óptico, como a su adaptación a ambientes difíciles (ruido, movimiento, polvo, etc.) y sobre todo muy diferentes en precio, permiten ser empleados para el control de la fórmula y el etiquetado de piensos compuestos. La ampliación de los modelos con un mayor número de muestras, y la utilización de métodos de regresión no lineales permitirá en un futuro cercano conseguir modelos más robustos y generalizables para el control global del proceso de fabricación de piensos compuestos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha desarrollado en el marco de los Proyectos INIA N° RTA2005-00212-C02-00 y de Excelencia N° 3713, utilizando el equipamiento e infraestructura del SCAI (Unidad NIR/MIR) de la UCO y del Dpto. de Producción Animal de la ETSIAM de Córdoba. Nuestro agradecimiento al grupo Saprogal por su colaboración en el suministro de información y muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aufrère J., Graviou D., Demarquilly C., Pérez J.M., Andrieu J. 1996. *Anim. Feed Sci. Technol.* 62, p. 77.
2. Büchmann N.B., Cowe I.A. 2002. *Proceedings of the 10th International Conference. A.M.C. Davies and R.K. Cho (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK, p. 71.*
3. CESFAC. 2004. *Reglamento Marca de Garantía "Alimentación Animal Certificada". CESFAC, MAPA y Fundación CESFAC. Madrid, España.*
4. Fernández de Ahumada E., Garrido Varo A., Guerrero J.E., Pérez Marín D., Gómez A (2005). *ITEA. Vol. Extra N°26, Tomo II (3): p. 635.*
5. Garrido A., Pérez-Marín D., Guerrero J.E., Gómez A., De Paz F., Delgado N. 2002. *Proceedings of the 10th International Conference. Davies A.M.C. and Cho R.K. (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK, p. 145.*
6. Garrido A., Pérez Marín D., Guerrero Ginel J.E., Gómez Cabrera A. 2003. *Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Vol. 200, p. 3.*
7. ISI, 2000. *Manual. FOSS NIRSystems/TECATOR. Infracsoft International, LLC. Sylver Spring MD, USA.*
8. Paul C. 2004. *2nd International Conference on Embedded NIR. 18-19th November. CRA-W, Gembloux. Belgium.*
9. Pérez-Marín D., Garrido-Varo A., Guerrero-Ginel J.E., Gómez-Cabrera A. 2004. *Anim. Feed Sci. & Technol.*, Vol. 116, p. 333.
10. Pérez-Marín D., Garrido-Varo A., Guerrero J.E., Gómez A. 2005. *Appl. Spectrosc.* 59, p. 69.
11. Shenk J.S. 2004. *2nd International Conference on Embedded NIR. 18-19th November. CRA-W, Gembloux. Belgium.*
12. Williams P.C. and Sobering D., 1996. *Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. Davies A.M.C. and Williams P.C. (Eds.). NIR Publications, Chichester, West Sussex, UK, p. 185.*
13. Xiccato G., Trocino A., De Boever J.L., Maertens L., Carabaño R., Pascual J.J., Pérez J.M., Gidenne T., Falcao-E-Cunha L. 2003. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104, p.153.

VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA RTi-PCR PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE INGREDIENTES DE ORIGEN ANIMAL EN PIENSOS COMPUESTOS

Vicente, F., González, M.T., Pérez¹, M., Presa¹, P., de la Roza-Delgado, B.

Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Apdo. 13; E-33300 Villaviciosa (Asturias). ¹Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología. Universidad de Vigo, E-36310 Vigo (Pontevedra).

fvicente@serida.org

INTRODUCCIÓN

La legislación europea prohíbe desde el año 2000 la utilización de harinas de carne y hueso para la alimentación animales destinados al consumo humano (Directiva 2000/766/CE). El método oficial de control de microscopía óptica (Directiva 2003/126/CE) resulta poco eficaz para su detección, identificación y cuantificación (Gizi y von Holst, 2002). Tiende a sobreestimar los ingredientes fácilmente distinguibles y a subestimar los de difícil identificación, presenta serias dificultades para identificar productos de origen animal (leche, grasa, etc.) y requiere de personal altamente especializado y experimentado. La propia norma europea establece que el examen microscópico puede ser reemplazado por otros métodos una vez demostrada su validez científica. Nuevas tecnologías se han desarrollado en los últimos años para la detección y cuantificación de la adición ilegal o contaminación cruzada de harinas animales en piensos (EU-project STRATFEED). En este proyecto se han estudiado, entre otras, las posibilidades de la tecnología NIRS para la detección rápida de harinas de carne (Garrido-Varo *et al.*, 2005) implementada con herramientas informáticas robustas que permiten minimizar los riesgos (de la Roza-Delgado *et al.*, 2005). Para la autenticación de especies animales en muestras sometidas a tratamientos térmicos severos se han desarrollado técnicas moleculares de PCR-RFLP (Dalama *et al.*, 2006). Sin embargo, éstas no permiten una cuantificación ni la detección simultánea de varias especies. En base a todo lo anterior, el presente trabajo se plantea con el objetivo de estudiar las posibilidades de la técnica de PCR a tiempo real (RTi-PCR) para la identificación simultánea y cuantificación de harinas animales de diferentes especies incluidas como ingredientes en piensos destinados a animales de abasto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material experimental: Como colectivo de muestras de validación se utilizaron 18 de piensos compuestos comerciales destinados 10 de ellos a animales de abasto, libres por lo tanto de harinas animales en su formulación, y 8 correspondientes a piensos de animales de compañía que sí contenían dicho ingrediente.

PCR cuantitativo: Tras el desengrasado de las muestras con una mezcla de cloroformo: metanol: agua (1:2:0,8 vol.) se procedió a la extracción y purificación del ADN mediante el método estándar fenol:cloroformo (Sambrook *et al.*, 1989). Se amplificó un fragmento de 464 pares de bases del citocromo b del ADN mitocondrial utilizando la química TaqMan[®] para el ADN de mamífero y el sistema SyBr-Green[®] para el de aves. Se diseñaron sondas TaqMan[®]-MGB y una pareja de cebadores para cada una de las especies de mamíferos. Para aves se utilizaron cebadores universales de esta especie (Herman, 2001). La especificidad de los cebadores y sondas seleccionados en cada especie se comprobó mediante análisis de homología de secuencia con la herramienta BLAST.

La amplificación se llevó a cabo con un termociclador fluorimétrico (7500 Real Time PCR System, Applied Biosystems) en un volumen final de 25 µL. Para la amplificación de ADN de vaca y cerdo se emplearon en cada reacción 12,5 µL de TaqMan Master Mix 2x, 0,5 µL de

sonda TaqMan-MGB (2 mM), 0.75 μ L primer forward (3 mM), 0.75 μ L primer reverse (3 mM) y 1 μ L de ADN (dilución 1/10). Las condiciones de amplificación fueron 2 minutos a 50°C, 10 minutos a 95°C seguido de 40 ciclos 20 segundos a 94°C, 55 segundos a 55°C y 30 segundos a 72°C. La medida de fluorescencia del ADN se realizó durante el paso de anillamiento. En el caso de las aves se emplearon en cada reacción 12,5 μ L de buffer SyBr-Green Master Mix, 0.75 μ L primer forward (3 mM), 0.75 μ L primer reverse (3 mM) y 1 μ L de ADN (dilución 1/10), con una secuencia de amplificación de 10 minutos a 95°C seguido de 40 ciclos 1 minuto a 95°C, 1 minuto a 67°C y 1 minuto a 72°C, con una extensión final a 72°C durante 5 minutos más un ciclo de disociación de 15 segundos a 95°C, 1 minuto a 60°C y 15 segundos a 95°C. La fluorescencia fue medida después de la fase de extensión.

La especificidad del producto amplificado se evaluó mediante el análisis de las curvas de disociación tras la reacción de PCR. Para el calibrado se incluyeron como estándares concentraciones conocidas de cada una de las especies a determinar, con patrones de 50, 12,5, 3,1, 1, 0,5 y 0,05 ng de ADN.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La amplificación del ADN de vaca se produce entre los ciclos 20-22, ligeramente antes que la observada en cerdos (ciclos 22-26), mientras que en las muestras de ave, el ADN amplificado aparece a partir del ciclo 31. Además, la amplificación de ADN de ave es muy inferior a la ocurrida con el ADN de mamífero, con valores muy cercanos al valor del estándar inferior. Esto puede ser debido a la distinta configuración del ADN de las aves y al uso de primers comunes para toda la clase taxonómica y no específicos como en el caso de los mamíferos.

A partir de las curvas de predicción establecidas con los estándares se cuantificó la concentración en nanogramos de ADN. El colectivo de muestras de validación no ofreció ningún resultado falso negativo ni falso positivo. En la Tabla 1 se muestra la proporción declarada de harinas animales de los piensos de validación con la cuantificación estimada de ADN en cada una de ellas.

Tabla 1. Porcentaje declarado de ADN de cada especie en las muestras de validación y concentración de ADN amplificado (ng de ADN).

Muestra	Vacuno		Ave		Porcino	
	% Harina	ng ADN	% Harina	ng ADN	% Harina	ng ADN
3274-03	0	0	0	0	0	0
3275-03	0	0	0	0	0	0
3276-03	0	0	0	0	0	0
3277-03	0	0	0	0	0	0
3278-03	19,25	176,59	4,85	0,0364	8,00	480,42
3279-03	17,69	167,59	1,00	0,0284	8,00	38,62
3280-03	15,39	126,09	4,00	0,4454	8,00	114,02
3282-03	0	0	25,39	0,0864	8,00	53,02
3283-03	21,69	108,09	1,00	0,2004	5,00	45,92
3285-03	0	0	26,95	0,0354	8,00	48,02
3288-03	0	0	0	0	0	0
3292-03	25,00	107,29	4,39	0,6854	0	0
3294-03	23,79	131,49	4,00	0,6064	0	0
3295-03	0	0	0	0	0	0
3297-03	0	0	0	0	0	0
3298-03	0	0	0	0	0	0
3299-03	0	0	0	0	0	0
3300-03	0	0	0	0	0	0

Cuando se intentó estudiar la relación entre el porcentaje de harina animal declarado con la concentración de ADN medido, se observó que no existe una correlación clara entre ambos parámetros. Estudiando individualmente cada una de las especies, los resultados de las muestras de vaca presentan cierta correlación ($R^2 = 0.86$). Ésta es forzada al no tener falsos positivos ni falsos negativos y estar sesgada la recta hacia el valor de cero. Sin embargo, los casos en que sí hay ADN, tienen una amplificación bien apreciable, pero en ningún momento hay una relación entre los nanogramos de ADN amplificado y el porcentaje de harina declarado. Sin embargo, tanto en las muestras de cerdo como de aves. La dispersión de los resultados impide la relación directa entre porcentaje y concentración de ADN.

Es llamativa la poca amplificación del ADN de ave respecto al valor declarado, posiblemente debido a la baja concentración de ADN mitocondrial o a procesos de desnaturalización debidos al tratamiento térmico. En todos los casos los valores detectados están cercanos al límite de detección.

La falta de correlación observada entra dentro de lo esperado debido a que la cantidad de ADN mitocondrial es muy variable según los diferentes orígenes de los tejidos que entran a formar parte en las harinas elaboradas. Hay que señalar que aunque el ADN mitocondrial tiene menos información que el ADN nuclear, es mucho más abundante. Sin embargo, las células tienen un número variable de mitocondrias en función del tipo de tejido y de su estado fisiológico.

Los resultados obtenidos muestran que la PCR a tiempo real puede amplificar el ADN de origen animal en muestras de harinas elaboradas y sometidas a fuertes tratamientos térmicos. La PCR necesita de un control estricto en su realización para prevenir contaminaciones cruzadas, ya que la PCR puede detectar fuentes de ADN de origen autorizado, como leche o sangre, que podría ocasionar resultados falsos positivos, aunque en el proyecto STRATFEED se indica que un proceso de sedimentación podría prevenir los resultados positivos obtenidos por el uso de materiales autorizados. Como estrategia se podría combinar con otras tecnologías como la microscopía óptica o reflectancia en el infrarrojo cercano para "screening" y confirmar las muestras positivas por PCR dada su alta especificidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al personal auxiliar del Laboratorio de Nutrición Animal del SERIDA. El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto MCYT GAN AGL2002-03131 e INIA CAL02-018-C2-1.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dalama, J., Vicente, F., Pérez, M., Plaza Bolaños, P., Presa, P., 2006. Actas del Congreso Iberoamericano sobre Seguridad Alimentaria p: 29
- de la Roza Delgado, B.; Soldado, A.; Modroño, S.; Martínez, A.; Vicente, F.; Pérez Marín, M.A.; Garrido Varo, A.; Guerrero, J.E.; Bayón, G.F.; Quevedo, J.R., 2005. Proceedings of 12th International Conference on Near Infrared Spectroscopy.
- Garrido Varo A.; Pérez Marín M.A.; Guerrero, J.E.; Gómez Cabrera A.; de la Haba, M.J.; Bautista, J.; Soldado, A.; Vicente, F.; Martínez, A.; de la Roza Delgado, B.; Termes, S., 2005. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 9:3-9
- Gizi G, von Holst C, 2002. Join Research Centre of the European Commission, Institute for Health and Consumer Protection, Food Products Unit, Ispra, Italy.
- Herman, L. 2001. *Journal of Dairy Research*, 68: 429-436.
- Proyecto STRATFEED, <http://stratfeed.cra.wallonia.be>
- Sambrook, J.; Fritsch, E. F.; Maniatis, T. 1989. *En Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, pp E3-E4.

ENSILADO DE MAÍZ VS ÁCIDO FÓRMICO UTILIZADO COMO CONSERVANTE EN EL ENSILADO DE HIERBA: Efectos sobre la producción y composición química de la leche

Salcedo, G.

Dpto. de Tecnología Agraria del I.E.S. "La Granja" 39792 Heras, Cantabria.

E-mail: gregoriosalce@ono.com

INTRODUCCION

El ensilado de hierba representa durante el período invernal uno de los recursos forrajeros más importantes en las dietas basales para el ganado vacuno lechero en la Cornisa Cantábrica (Salcedo, 1998). Sin embargo, en la mayoría de los casos, la hierba de partida es recolectada en un estado avanzado de madurez, con bajos contenido en energía, proteína bruta y elevadas concentraciones de nitrógeno amoniacal (Sarmiento *et al.*, 1996); por añadidura su degradabilidad en rumen (Salcedo, 1998). Entre otros, el valor alimenticio del ensilado depende de la especie, de la digestibilidad en el momento de ensilar, y de la calidad de fermentación y conservación (Zea y Díaz, 1996).

Las condiciones climatológicas de la Cornisa Cantábrica en primavera inducen riesgos de precipitaciones inesperadas, disminuyendo la ensilabilidad de los forrajes (Flores *et al.*, 2000); de ahí la conveniencia del uso de aditivos. En la actualidad, los más empleados son el ácido fórmico y sus sales e inoculantes de bacterias lácticas (Keady y Murphy, 1993). Entre otros, los objetivos perseguidos son los de mejorar la fermentación, reducir las pérdidas por efluentes (Haigh, 1999); aumentar el consumo de materia seca y posterior ganancia diaria de peso vivo en terneros (Pena *et al.*, 2000) y producción de leche (de la Roza *et al.*, 1999)

Los objetivos de este experimento fueron comparar las respuestas productivas y de excreción de nitrógeno en vacas multíparas y primíparas alimentadas con ensilados de hierba conservados con ácido fórmico o ensilado de maíz respecto a otros modelos de estimación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas

Durante cuarenta días, 16 vacas Frisonas (8 primíparas y 8 multíparas) mediando 98 ± 29 días en leche; $17,8 \pm 0,82$ kilos de leche y 584 ± 15 kg de peso vivo las primíparas y 88 ± 55 ; $22 \pm 2,1$ y 628 ± 22 las multíparas, fueron distribuidas en dos grupos (primíparas y multíparas) para recibir otras tantas dietas durante dos períodos sucesivos de 20 días, 10 como preexperimental y 10 de control, según un diseño experimental "cross-over". Aquellas están basadas en ensilados de hierba [conservada con ensilado de maíz (EHM) al 10% o con ácido fórmico (EHAF) 3,5 l/t] *ad libitum*; 5 y 3,6 kg por cabeza y día de materia seca de ensilado de maíz y concentrado respectivamente. Este último formado por 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.

El control individual de producción de leche se realizó durante los 10 días de cada período experimental. De igual forma, una alícuota de leche procedente del ordeño de mañana (7 a.m.) y el de tarde (16 p.m.) fueron mezcladas para la determinación de la composición química en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Santander). La concentración de urea, según Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1973).

Análisis estadístico

La producción y composición química de la leche fue analizado como un factorial 2 x 2: (2 ensilados por 2 estados productivos) con SSPS (2002).

RESULTADOS Y DISCUSION

Desde el inicio al final del experimento, la producción de leche disminuyó 2,45 kg en las vacas multíparas y 1,06 kg las primíparas, atribuido al cambio de dieta,

anteriormente se encontraban en pastoreo. En este sentido Chamberlain, (1987), indica menor contenido de azúcares solubles en los ensilados que la hierba verde, por añadidura, menor energía fermentable disponible para los microorganismos del rumen.

Entre vacas, la producción de leche (Tabla 1) fue mayor en las múltiparas ($P<0,001$), sin diferencias entre ensilados, al igual que la corregida al 4% graso ($P<0,001$). La eficiencia bruta expresada como kilos de leche por kilos de materia seca ingerida, no se observaron diferencias significativas entre ensilados (Tabla 1) y sí, ($P<0,001$) entre vacas, mayor en múltiparas (0,94 vs 0,85 kg/kg).

La concentración de grasa no fue diferente entre ensilados y vacas, con porcentajes medios de 4,33% y 4,22% para los ensilados conservados con ensilado de maíz y ácido fórmico respectivamente y, 4,27% entre vacas (Tabla 1), imputable a un consumo de fibra neutro detergente no limitante para la formación de ácido acético en panza y, semejante digestibilidad de la materia orgánica (71,6% vs 70,7% en EHEM y EHAF). En esta línea Rogers y Robinson (1980), señalan que cuando el ensilado de hierba es de mejor calidad que la hierba verde, el porcentaje de grasa desciende e incrementa cuando disminuye. En el presente trabajo al tratarse de ensilados de diferente digestibilidad (57,9% para EHEM y 62,7% EHAF), la concentración de grasa en la leche fue semejante.

Para la proteína fue mayor en las vacas primíparas (3,19%) y 2,99% en múltiparas, sin diferencias entre ensilados (Tabla 1). Sin embargo, y según el conservante añadido al ensilado de hierba, el contenido de urea en leche fue menor con ensilado de maíz y en vacas múltiparas ($P<0,001$), atribuido a la menor relación nitrógeno degradable en rumen / megajulio de energía metabolizable (gr NDR/MJ) obtenido en EHEM (1,56 vs 1,72 g NDR/MJ de EM), como lo corrobora la inferior concentración de nitrógeno amoniacal en rumen (136,7 vs 151,9 mg/l), lo que cabe pensar en un superior contenido de N proteico. En vacas lecheras Salcedo (2005), también observó ligeros incrementos de proteína en leche cuando las vacas son alimentadas con ensilado de trigo conservado con ensilado de maíz y semejante aporte de concentrado respecto al conservado con ácido fórmico.

Tabla 1
Producción y composición química de la leche

Ensilado	Vacas	Leche kg/d	Leche kg 4% graso	GB, %	PB, %	Urea, mg/l	ESU, kg/d	EB, MJ/d	Kg leche /kg MS	EB/EM %	N leche / N Ingerido, %
EHEM	Mult.	19,4a	20,6a	4,31	2,94c	7,79c	1,59a	64,0a	0,93a	29,4a	18,1
	Primp.	16,8b	17,6b	4,34	3,23a	11,9ab	1,31b	54,9b	0,85b	26,8b	18,0
EHAF	Mult.	19,4a	20,1a	4,23	3,04bc	11,1ab	1,56a	62,8a	0,94a	30,2a	18,3
	Primp.	16,7b	17,2b	4,21	3,15ab	13,6c	1,31b	53,8b	0,84b	27,1b	17,1
std		0,13	0,15	0,037	0,029	0,024	0,018	0,47	0,01	0,30	0,25
Interac		***	***	NS	***	***	***	***	***	***	NS
EHEM		18,2	19,1	4,33	3,09	9,69	1,45	59,5	0,89	28,1	18,1
EHAF		18,1	18,7	4,22	3,09	12,78	1,44	58,3	0,89	28,7	17,7
P<		NS	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
P<	Mult.	19,5	20,3	4,27	2,99	9,62	1,58	63,4	0,94	29,8	18,2
	Primp.	16,7	17,4	4,27	3,19	12,82	1,31	54,4	0,85	26,9	17,6
P<		***	***	NS	***	***	***	***	***	***	NS

a,b,c: valores acompañados de distinta letra dentro de cada columna difieren $P<0,05$; std: error estándar de la media. **GB**: Grasa bruta; **PB**: Proteína bruta; **ESU**: Extracto seco útil; **EB**: Energía bruta; **EB/EM**: Eficiencia de utilización de la energía metabolizable

La diferencia de energía metabolizable ingerida entre ensilados y vacas fue de 7 y 12 MJ/d respectivamente; sin embargo, el porcentaje de energía bruta excretada en leche (Tyrrell y Reid, 1965) respecto a la energía metabolizable ingerida no fue diferente entre ensilados y sí, entre vacas ($P<0,001$). La no existencia de diferencias entre ensilados, cabe imputarlo tal y como señala Thomas (1982), al bajo suministro que hacen los carbohidratos solubles de los ensilados para el crecimiento microbiano, contrario a las dietas con forrajes verdes, como consecuencia de las importantes transformaciones sufridas durante el proceso de ensilado. En este sentido, Salcedo (2002) a partir de la relación [(100 x energía bruta leche) / energía metabolizable

ingerida] observó eficiencias menores cuando a las vacas lecheras se les restringe el tiempo de pastoreo, sustituyéndolo por ensilado de hierba, respecto a las que permanecen más tiempo en pastoreo. En el presente experimento, se apreció descensos en la eficiencia de utilización de la energía metabolizable tanto en vacas primíparas como multíparas con incrementar el consumo de energía metabolizable

La eficiencia de utilización del N excretado en leche estimada como $[(100 \times N \text{ leche (g/d)}) / N \text{ ingerido (g/d)}]$ fue semejante entre ensilados y vacas, con valores medios de 18,2% en multíparas y 17,6% en las primíparas (Tabla 2), imputable al elevado consumo de N en ambos casos respecto a sus necesidades teóricas. Estos porcentajes resultan semejantes a los obtenidos por Vérité y Delaby (2000); Tamminga, (1992) y dentro del rango de 15-25% señalado por Aarts *et al.*, (1992). De este modo, cada gramo de N ingerido por encima de 449 g/d en el rango 449-533 g N/d, la eficiencia disminuye 0,061 unidades porcentuales. Esta pendiente es superior a la obtenida por Salcedo (2006) de 0,037 en dietas con ensilado de hierba y semejante aporte de concentrado (n=1747) para un rango de 90 a 659 g N vaca y día.

Como conclusiones de este experimento cabe destacar que el tipo de conservante empleado no afectó a la producción de leche, porcentaje de grasa y proteína, eficiencia bruta (kg/kg) y eficiencia de utilización de la energía metabolizable y del N ingerido.

BIBLIOGRAFIA

- AARTS, H.F.M., E.E. BIEWINGA, AND H. VAN KEULEN. 1992. *Netherlands Journal of Agricultural Science* **40**:285-299.
- CHAMBERLAIN, D.G., 1987. *Process Biochemistry*, **22**: 60-63.
- FLORES, G.; J. CASTRO; A. GONZALEZ; T. BREA; G. AMIL; M. GONZALEZ y M. CARDELLE, 2000. *3ª Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*. Bragança-A Coruña-Lugo. 627-632.
- HAIGH, P., 1999. *Grass and Forage Science*, **54**: 208-218.
- KEADY, T.W., and MURPHY, J.J., 1993. *Proceedings of the 10th International Conference on silage Research, Dublin*, pp. 226-227.
- PENA, M^a.; ZEA, J.; DIAZ, M^a., 2000. *3ª Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*. Bragança-A Coruña-Lugo. 632-637.
- ROGERS, G.; ROBINSON, R. 1980. Ellibank Dairy Research Station Annual Report, Victoria Department of Agricultura, pp. 67-68.
- ROZA de la, B.; MARTINEZ, A., ARGAMENTERIA, A. 1999. *ITEA*, Vol. Extra, N° 20, Tomo II, 526-528.
- SALCEDO, G. 1998. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.* Vol 13 (1, 2 y 3).
- SALCEDO, G. 2002. *ITEA*, Vol. **98A**, N° 3:328-346.
- SALCEDO, G. 2005. *Cría y Salud* N° 4.
- SALCEDO, G. 2006. Documentos técnicos de Medio Ambiente. Consejería de Medio Ambiente del Gobierno de Cantabria, p. 264.
- SARMIENTO, M.; SALCEDO, G.; GONZALEZ, L.M. 1996. *Actas de la XXVI R.C. de la SEEP*, Logroño. 337-340.
- SSPS 11, 2002. Guía para el análisis de datos.
- TAMMINGA, S. 1992. *J. Dairy Sci.* **75**:345-357.
- THOMAS, P.C. 1982. *Forage Protein in Ruminant Animal Production*, **66-77**.
- TYRREL, H.E.; REID, J.T. 1965. *J. Dairy Sci.* **48**:1215-1233.
- VERITE, R.; DELABY, L., 2000. *Ann. Zootech.* **49**:217-230.
- ZEA, J.; DIAZ, M^a D. 1996. *Pastos: XXVI (2)*: 129-173.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SOJA FORRAJERA Y DEL ESTADO FENOLÓGICO DEL MAÍZ EN LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

Argamentería, A., Vicente, F., Martínez-Fernández, A., de la Roza, B.

Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Apdo. 13; E-33300 Villaviciosa (Asturias). fvicente@serida.org

INTRODUCCIÓN

En la Cornisa Cantábrica, el vacuno lechero es alimentado en la estación invernal principalmente utilizando raciones con ensilado de maíz como base. Sin embargo, dicho ensilado es deficitario en proteína bruta, por lo que normalmente es suplementado con concentrados con altas concentraciones de proteína bruta, provocando, de modo habitual, desequilibrios nutricionales en la relación proteína:energía, con un exceso de la primera lo que se traduce en un incremento en la excreción de urea por la leche (Vicente, 2002; de la Roza *et al.*, 2005). Por otro lado, la suplementación con concentrados ocasiona un incremento en los costes de alimentación, agravado en la actualidad debido al desvío de las materias primas para alimentación animal hacia la producción de biocombustibles con el consecuente aumento de su precio. La introducción de leguminosas en las alternativas forrajeras es importante desde el punto de vista edáfico, medioambiental y económico al disminuir los *inputs* de fertilizante nitrogenado sintético al suelo. La asociación de soja forrajera inoculada con *Rhizobium* al maíz para ensilar permite obtener una producción similar pero con un nivel más elevado de proteína total, que equilibraría la relación de proteína:energía, y reduciendo el uso de fertilizante nitrogenado (de la Roza *et al.*, 2002).

El presente trabajo se plantea con el objetivo de estudiar el efecto de la asociación de maíz y soja forrajera para ensilar conjuntamente sobre la producción y calidad de la leche, estudiando diferentes niveles de inclusión de soja en la mezcla forrajera, así como distintos estados de madurez del grano de maíz en el momento de ensilar.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas: Dos parcelas fueron sembradas con maíz forrajero (*Zea mays* L. cv 'Clarica') limítrofes con otra sembrada con soja forrajera (*Glycine hispida* (Moench) Max. cv 'Osumi') inoculada con *Rhizobium*. El maíz se recolectó en dos estados fenológicos diferenciados: grano pastoso (GP) y grano pastoso vítreo (GPV), mientras que la soja forrajera se encontraba en el momento de la cosecha en el estado de vainas con grano. Se realizaron tres mezclas diferentes de forrajes: Maíz sólo (M00S), maíz con un 20% de soja (M20S) y maíz con un 50% de soja forrajera (M50S), cada uno de ellos con los dos tipos de maíz obtenidos. Tres meses tras el cierre de los ensilados se realizaron ensayos en nave metabólica con un lote de doce vacas frisonas en producción, en un diseño de un doble cuadrado latino 3 x 3.

El protocolo experimental consistió en 15 días de adaptación a la dieta seguidos de siete de control individual de ingestión de ensilado, excreción de heces y orina y producción de leche. Cada animal recibía como suplemento 5 kg/día de un concentrado compuesto por harina de soja, solubles de destilería, harina de girasol, bicarbonato sódico y corrector vitamínico-mineral.

El ensilado se ofertó, en igual cantidad, dos veces al día tras cada ordeño, mientras que el concentrado se ofrecía, también ofrecido en dos fracciones, media hora antes. Diariamente, se

determinó la MS en estufa de aire forzado a 102°C de los alimentos ofertados, rehusos y heces. Se tomaron alícuotas de los mismos para su liofilización, molienda a 0,75 mm y posterior análisis. Asimismo se acumularon alícuotas diarias de orina, recogida sobre H₂SO₄ (40% v/v) y leche conservada con K₂Cr₂O₇. Se realizaron las determinaciones según el esquema Weende (AOAC, 1990) y el fraccionamiento de la fibra según la técnica de Van Soest *et al.* (1991). La leche se analizó mediante Milkoscan en el Laboratorio Interprofesional Lechero y Agroalimentario de Asturias. Los resultados de ingestión, digestibilidad *in vivo*, producción y composición química de la leche se compararon según un modelo de análisis de varianza y = Media + Vaca (Madurez) + Madurez + Ensilado + Madurez*Ensilado + Error. El contraste de medias se realizó por mínimos cuadrados con la ayuda del paquete estadístico SAS (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se incluyó junto con en el maíz la soja forrajera, ésta disminuyó el contenido en materia seca, fibra neutro detergente y almidón, mientras que incrementó la proporción de proteína bruta del ensilado resultante. Los detalles de la composición química y valor nutritivo de las distintas mezclas forrajeras han sido previamente publicados (Argamentería *et al.*, 2005).

Los efectos del tipo de ensilado sobre la ingestión, producción, composición de la leche y la eficiencia de utilización de nitrógeno dietético se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingestión voluntaria de materia seca (MS) y materia orgánica (MODI) y proteína bruta digestibles (PBDI), producción y composición de la leche y eficiencia de utilización del nitrógeno dietético según el tipo de mezcla forrajera y estado de madurez del maíz.

	GP			GPV			e.e.	Significación	
	M00S	M20S	M50S	M00S	M20S	M50S		Madurez	Ensilado
MS (kg/d)	18,4	19,3	19,4	19,4	21,1	20,9	0,37	NS	NS
MODI (kg/d)	11,6	12,4	12,6	12,5	12,8	13,3	0,24	NS	NS
PBDI (kg/d)	1,57 ^a	2,32 ^b	2,26 ^b	1,46 ^a	1,95 ^b	2,33 ^b	0,042	NS	***
Leche (kg/d)	23,9 ^a	26,0 ^a	26,2 ^a	30,4 ^b	31,1 ^b	32,1 ^b	0,50	***	NS
Grasa (%)	4,38	4,55	4,59	4,08	4,34	4,60	0,078	NS	NS
Proteína (%)	3,04 ^b	3,03 ^b	2,95 ^b	2,73 ^a	2,74 ^a	2,76 ^a	0,025	***	NS
Lactosa (%)	4,89	4,88	4,89	5,00	4,96	4,97	0,031	NS	NS
SNG (%)	8,66 ^b	8,64 ^b	8,55 ^b	8,45 ^a	8,42 ^a	8,44 ^a	0,037	*	NS
Urea (mg/L)	194 ^a	282 ^b	281 ^b	196 ^a	263 ^b	313 ^b	11,6	NS	**
EB (MJ/kg)	2,71	2,81	2,74	2,70	2,69	2,85	0,048	NS	NS
Eficiencia del N (%)	29,0 ^b	24,3 ^a	23,8 ^a	34,1 ^c	29,1 ^b	26,8 ^{ab}	0,44	***	***

SNG: Sólidos no grasos; EB: Energía bruta. e.e.: error estándar de la media; ^{a, b, c}: Medias con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas al nivel indicado. NS: p>0,05; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001.

La mezcla forrajera en el ensilado no afectó a la ingestión total de materia seca ni a la de materia orgánica digestible. Este hecho puede ser debido a la mayor velocidad de digestión de los carbohidratos estructurales de las leguminosas (Benchaar *et al.*, 2001). Sin embargo, la mayor concentración de proteína en las dietas M50S y M20S junto con su superior digestibilidad *in vivo* (69,4, 68,2 y 61,1 % para M50S, M20S y M00S respectivamente, p<0,001) inducen a una mayor ingestión de proteína bruta digestible. Ahora bien, el nivel de proteína de la ración no afectó a la producción total de leche, viéndose ésta únicamente afectada por el estado de

madurez del grano de maíz (25,39 vs. 31,20 kg/d en GP y GPV respectivamente, $p < 0,001$). Asimismo, cuando el maíz ensilado en el estado de grano pastoso constituía la dieta basal aumentó la concentración de proteína (3,01 vs. 2,75%, $p < 0,001$) y de sólidos no grasos (SNG; 8,62 vs. 8,44%, $p < 0,05$) de la leche, sin embargo el aporte de proteína de la ración no se tradujo en un incremento en la concentración de proteína de la leche, aunque sí fue significativamente más elevada la excreción de urea a través de la leche en las raciones que incluían soja en el ensilado (195 vs. 297 mg/dL para M00S, 20S y M50S respectivamente, $p < 0,01$), debido a una restricción proteica mucho más acusada en la dieta de sólo maíz que la restricción en la ingesta de energía en las dietas de maíz y soja (Vicente, 2002).

Las diferencias en la proporción de proteína de la leche según el estado de madurez del grano de maíz, así como la mayor excreción de urea en las dietas con inclusión de soja se traducen en diferencias en la eficiencia de utilización del nitrógeno dietético definida como la relación entre la producción diaria de proteína en leche respecto al total de proteína dietética ingerida. El nitrógeno ingerido a partir de los ensilados realizados con maíz con estado de madurez pastoso fue utilizado más ineficientemente que con el maíz en estado pastoso-vítreo (25,67 vs. 29,99% respectivamente, $p < 0,001$). Asimismo, las dietas con niveles más altos de proteína bruta tuvieron una eficiencia de utilización del 25,99% mientras que con la dieta de sólo maíz, el nitrógeno de la dieta fue utilizado con una eficiencia del 31,52% ($p < 0,001$).

La utilización de ensilado de maíz cosechado en el estado fenológico de grano pastoso-vítreo se tradujo en un incremento en cerca de 6 kg al día de leche producida, aunque la calidad de la leche se resiente al presentar dicha leche una concentración proteica inferior a 3% en todos los casos. La inclusión de soja forrajera en el ensilado de maíz no mejora la calidad de la leche, al derivar la metabolización del nitrógeno dietético suplementario hacia una mayor excreción de nitrógeno no proteico a través de la leche. La eficacia de utilización del nitrógeno de la dieta mejora significativamente con la dieta de sólo maíz, especialmente cuando éste es cosechado en el estado de grano pastoso-vítreo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto INIA SC99-032.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemist*. 14th ed. Argentería, A.; M.A. Cueto Ardavín, B. de la Roza, F. Vicente, A. Martínez Fernández 2005. En: *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural*. Eds: K. Osoro, A. Argentería, A. Larraceleta. p. 161-167.
- Benchaar, C.; Pomar, C.; Chiquette, J., 2001. *Canadian Journal Animal Science*, 81, 563-574.
- de la Roza, B., Marbán, A., Paredes, E., Vicente, F., Rodríguez, M.L., Argentería, A. 2005. ITEA, Vol. Extra N1 26. Tomo II, 650-652.
- de la Roza, B.; Martínez, A; Argentería, A., 2002. En: Actas de V Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. I Congreso Iberoamericano de Agroecología. p. 1245-1252.
- SAS Institute, SAS/STATM (1999). *User's Guide. Release 8.2*. SAS Institute, Inc. 10 Cary, NC (1999).
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B.; Lewis, B. A., 1991. *Journal Dairy. Science*, 74, 3583-3597.
- Vicente. F. 2002: Relación entre la concentración de urea en leche y el manejo nutricional en vacuno lechero. Ed. KRK Ediciones (Oviedo) y SERIDA (Villaviciosa). 29 pp.

EFFECTO DE UN ADSORBENTE DE MICOTOXINAS (AFLADETOX) EN LA RACIÓN DE VACAS LECHERAS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LA LECHE

Denli¹, M., Blandon¹, J.C., Salado², S., Pérez¹, J.F., Calsamiglia¹, S.

¹Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona. Sergio.calsamiglia@uab.es

²ADIVETER, S.L. C/Prudenci Bertrana, 5, Pol. Ind. Agro-Reus. 43206, Reus. Tarragona. e-mail: ssalado@adiveter.com

INTRODUCCION

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* que se encuentran con frecuencia como contaminantes de alimentos. Las aflatoxinas tienen actividad carcinogénica, mutagénica, teratogénica e inmunosupresora en un amplio abanico de animales (Busby y Wogan, 1984). La aflatoxina M1 (AFM1) es un metabolito producto de la biotransformación de la aflatoxina B1 (AFB1) que puede encontrarse en la leche de animales lactantes cuando consumen alimentos contaminados con AFB1. La AFM1 es un compuesto potencialmente carcinogénico para el hombre y se incluyen en la clase de la clasificación IARC (1993). La ingestión de AFM1 ha generado preocupación en las autoridades sanitarias debido al alto consumo de leche y productos derivados de la población, especialmente en niños. La concentración máxima legal en los alimentos está regulada en 0,5 ppb por la *Food and Drug Administration* de EEUU. Además, la Comunidad Europea ha establecido un límite máximo más estricto de 0,05 ppb, en la leche (Council Directive 1999/29/EC). La relación entre la cantidad de AFB1 ingerida y la cantidad de AFM1 presente en la leche es muy variable y la transferencia es de alrededor del 0,3-6,2 % de AFB1 en la ración que se transforma en AFM1 y aparece en leche (Creppy, 2002). El uso de sustancias adsorbentes para la reducción de la presencia de residuos de AFM1 en leche ha sido objeto de varios estudios en animales lactantes (Applebaum y Marth, 1982; Galvano et al., 1996).

AflaDetox es un producto resultante de la modificación y activación de una tierra de diatomeas, material natural extraído de cantera, cuya composición es en un porcentaje superior al 70% dióxido de silicio. Presenta unas características físico-químicas de ser inerte, altamente poroso y con una elevada capacidad de adsorción y de intercambio catiónico que le hacen idóneo para la adsorción de toxinas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de un adsorbente de micotoxinas (AflaDetox, ADIVETER, S.L.) para reducir la excreción de aflatoxina M1 en la leche de vacuno.

MATERIALES Y METODOS

Debido a la dificultad de establecer tratamientos experimentales en vacuno en lactación mediante dosificación de AFB1 debido a su elevada toxicidad para humanos y la dificultad de obtener las cantidades necesarias comercialmente, se decidió establecer un estudio en una explotación comercial que ya presentara un problema de contaminación de alimentos por AFB1. El hecho de desarrollar el estudio en una explotación comercial hace casi imposible la constitución de lotes que permitan comparar en un mismo momento un tratamiento control con la adición de AflaDetox por lo que el estudio debió desarrollarse en momentos diferentes sobre los mismos animales.

1. Fase pre-experimental:

Se obtuvieron muestras de silo y leche para la identificación de la presencia de micotoxinas en 5 explotaciones con sospecha de contaminación en Girona. De estas explotaciones se seleccionó la más apropiada para el estudio en función del nivel de micotoxinas en los ingredientes de la ración y residuos en leche.

2. Fase experimental:

Se utilizaron 25 vacas de raza Frisona del rebaño que consumían una ración contaminada con AFB1 (concentración media de 21 ppm). La ración Unifeed expresada en materia seca (MS) consistió en ensilado de maíz (35%), silo de hierba (13%), heno de alfalfa deshidratado

(11%), un concentrado comercial y un núcleo vitamínico-mineral durante todo el periodo experimental. La ración fue formulada para cumplir las necesidades establecidas en el NRC (2001) para una vaca de 30 L de producción media (1,68 Mcal ENI/kg MS, 17,3% PB, 32% FND, 21% FAD, 4,7% grasa). El estudio se desarrolló en tres periodos consecutivos: Periodo 1, período control o pre-experimental, Periodo 2 en los que se adicionó AflaDetox, adsorbente específico para AFB1 al 1% (directamente al carro unifeed) y un Periodo 3 de nuevo con tratamiento control. Cada periodo experimental consistió en 2 semanas de adaptación y una semana para el muestreo. En la semana de muestreo, se obtuvo una muestra compuesta de los ensilados, la alfalfa y la ración unifeed durante 3 días para el análisis de su composición y el contenido en AFB1. La producción y composición de la leche se determinó en tres días consecutivos. El último día de muestreo se obtuvieron muestras de leche para la determinación de la concentración de AFM1 y de sangre para el análisis de la funcionalidad hepática (alanina aminotransferasa: ALT, aspartato amino-transferasa: AST y glutamil-transferasa: GGT). El contenido en MS de los silos y la ración unifeed se determinó en una estufa a 65°C durante 48 horas. El contenido en FND y FAD se determine según Van Soest et al. (1991) utilizando amilasa termo-resistente y sulfito sódico. La proteína bruta de la ración, el extracto etéreo y las cenizas se determinaron según los procedimientos del AOAC (2000). La composición química de leche se analizó con un Milkoscan (Milkoscan Model 4000, Foss Electric, Hillorod, Denmark). El contenido en AFB1 y AFM1 se determinó por ELISA. La concentración plasmática de ALT, AST y GGT se determinaron por colorimetría. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza utilizando el paquete estadístico SPSS (Chicago, EEUU), la separación de medias se realizó con el test de Duncan y las diferencias se consideraron significativas para un $P < 0,05$.

RESULTADOS

Fase experimental 1:

Los resultados de los análisis de micotoxinas (AFM1 en leche y AFB1 en ensilados) en las 5 explotaciones se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Concentración de AFM1 en leche y AFB1 en los ensilados, consumo diario de ensilados (kg/vaca/día) y número de vacas en las 5 explotaciones evaluadas.

	EXPLOTACIONES EVALUADAS				
	1	2	3	4	5
Leche	32 ppt	33 ppt	44 ppt	51 ppt	52 ppt
Silo Triticale (consumos)	19 ppb (6 kg/día)	-	-	18 ppb (23 kg/d)	11 ppb (13 kg/d)
Silo maíz (consumos)	18 ppb (11 kg/d)	16 ppb (36 kg/d)	23 ppb (25 kg/d)	-	-
Número vacas	178	48	98	35	29

De estas explotaciones, se descartaron las explotación 4 y 5 por que cambiaban de forraje en el tiempo previsto de duración del experimento. En consecuencia, se seleccionó la explotación 3 por presentar el mayor nivel de micotoxinas, su predisposición a colaborar en el estudio y por el mayor número de animales de la explotación.

Fase experimental 1:

La producción y composición de la leche, y el conteo de células somáticas estaban dentro de los parámetros de normalidad para el tipo de explotación en la zona estudiada, y no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$). Las medias de los tres periodos fueron: 21,9 kg/vaca/día de ingestión de MS, $27,9 \pm 0,32$ L/vaca/día de producción de leche, $3,85 \pm 0,24$ % de contenido en grasa, $3,19 \pm 0,27$ % de contenido en proteína, y $290.700 \pm 134,7$ células/mL de conteo de células somáticas. Los parámetros sanguíneos se encontraron en los rangos normales y tampoco se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$), con medias de $33,8 \pm 9,1$, $108,0 \pm 19,4$, y $16,9 \pm 3,7$ U/L para las actividades séricas de la ALT, AST y GGT, respectivamente. La falta de efecto de los tratamientos sobre los parámetros productivos y de funcionalidad hepática son probablemente consecuencia del nivel sólo moderado de micotoxinas en la ración. En la gráfica adjunta puede observarse la evolución

en el contenido en AFM1 en leche durante el periodo de muestreo de cada periodo. La concentración media de AFM1 en las muestras del primer ($250 \pm 8,4$ ppt) y tercer ($166,1 \pm 8,6$ ppt) periodo (sin inclusión de AflaDetox) fue significativamente superior ($P < 0,001$) a la concentración de AFM1 observada durante el Periodo 2 cuando se añadió AflaDetox en la ración ($97,1 \pm 5,4$ ppt). En algunos casos, la concentración de AFM1 en el Periodo 1 superó el límite de detección superior del test; en esos casos en el análisis estadístico se consideró un valor constante de 250 ppt por lo que la media del Periodo 1 está subestimada. Aunque los datos sugieren un efecto de arrastre, ya que la concentración de AFM1 en el Periodo 3 fue inferior al Periodo 1 aun cuando en ambos casos la ración no contenía AflaDetox, el diseño experimental no permite analizar este efecto.

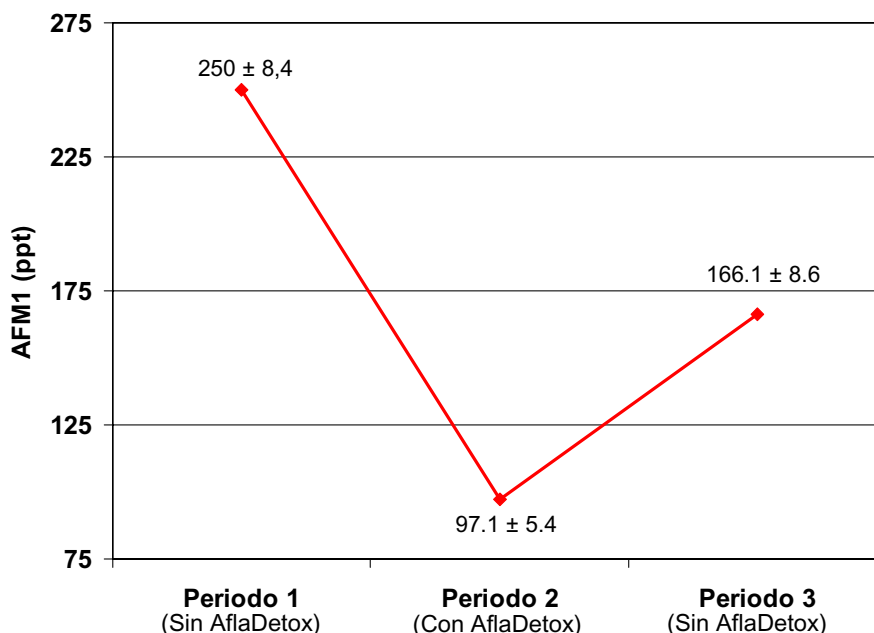


Figura 1. Efecto de AlfaDetox en el residuo AFM₁ en leche.

CONCLUSION

Los resultados indican que la inclusión de AflaDetox en la dieta produjo una reducción del 61,2 % la concentración de AFM1 en leche de vacas alimentadas con una ración contaminada con AFB1.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Applebaum R.S., Marth E.H. 1982. Z Lebensm Unters Frosch; 174:303–305.
- Busby, W.F. and Wogan, G.N. 1984. In: Chemical Carcinogenesis. Ed. Searle, C.D., American Chemical Society, Washington, D.C., USA. pp. 945–1136.
- Creppy, E.E., 2002. Toxico. Lett. 127:19-28.
- Galvano, F., Pietri A., Bertuzzi T., Fusconi G., Galvano M., Piva A., Piva G., 1996, J Food. Prot. 59: 551–554,
- IARC, 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. International Agency For Cancer Research (IARC, 1993 Lyon), Volume 56 pp 245-395.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th Ed. National Academic Press, Washington, DC.

USO DE SEMILLA DE LINO EXTRUSIONADA EN VACUNO LECHERO: RESULTADOS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS

Fuentes, M. C. ¹, Calsamiglia, S. ¹, Sánchez, C. ², González, A. ³, Santos, J. E. ⁴, Newbold, J. R. ⁵, Fontecha J. ⁶ y Rodríguez- Alcalá, L. M. ⁶

¹Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, España; ²Tauste Ganadera, Zaragoza, España; ³Nutral, SA, Madrid, España; ⁴University of California, Davis, CA; ⁵PROVIMI, Bruselas, Bélgica; ⁶CSIC, Madrid, España. Correo electrónico: Sergio.Calsamiglia@uab.cat

INTRODUCCIÓN

El aumento en la producción de leche de las últimas décadas se ha acompañado de una notable reducción de la fertilidad (Butler, 1998). Parte de esta bajada de fertilidad puede atribuirse a las pérdidas embrionarias (Moore y Thatcher, 2006). Aproximadamente en el día 17 de estro e inseminación, el interferón- τ (IFN- τ) producido por el embrión informa del estado de gestación al útero, inhibiendo la secreción pulsátil de PGF_{2 α} del endometrio, evitando la regresión del cuerpo lúteo y manteniendo la preñez. Parte de las pérdidas embrionarias tempranas que las vacas experimentan han sido atribuidas a embriones poco desarrollados que producen cantidades insuficientes de IFN- τ (Thatcher *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004). El ácido linoleico (C_{18:2 n6}) se convierte a ácido araquidónico (C_{20:4 n6}) que es el precursor de las prostaglandinas de la serie 2, como la PGF_{2 α} , con actividad luteolítica en el cuerpo lúteo bovino. Sin embargo, los mismos enzimas elongasas y desaturasas también convierten el ácido linoléico (C_{18:3 n3}) a ácido eicosapentanoico (C_{20:5 n3}), precursor de las prostaglandinas de la serie 3, como la PGF_{3 α} (Abayasekara y Wathes, 1999), con reducida actividad biológica. La competición entre los precursores n-3 y n-6 por las enzimas elongasas y desaturasas implica que aumentando el aporte de ácidos grasos (AG) n-3 en la dieta de vacas lecheras se reducirá la producción de prostaglandinas de la serie 2 en favor de las de la serie 3. Por tanto, cambiando el perfil de AG de las dietas de vacuno lechero se podría reducir la secreción endometrial de PGF_{2 α} ayudando a los embriones que no producen suficiente IFN- τ a mantener la preñez, reduciendo de esta manera la mortalidad embrionaria y afectando positivamente la fertilidad en vacuno lechero. Por tanto, los objetivos de este experimento fueron estudiar los efectos de la semilla de lino extrusionada sobre la producción y la reproducción en condiciones comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 356 vacas Holstein multiparas al inicio de la lactación (25 \pm 3 DEL) que fueron asignadas a una de las dos dietas experimentales en un diseño de bloques al azar. Los animales estuvieron bajo control experimental entre las semanas 4 y 20 de lactación. Durante el periodo anterior al inicio del experimento (0 a 25 \pm 3 DEL) todas las vacas recibieron la misma dieta y estuvieron alojadas en el mismo parque. Pasado este tiempo, los animales se alojaron en dos parques aleatoriamente y recibieron una de las dos dietas experimentales: control (CTR) o lino (LIN). Ambas dietas fueron similares en composición excepto en el suplemento proteico, siendo el de la dieta CTR rico en semilla de soja extrusionada y jabones cálcicos de AG mientras que el suplemento de la dieta LIN estuvo basado en semilla de lino extrusionada. Los datos de producción (ingestión por grupo, producción y composición de leche) y de rendimiento reproductivo se obtuvieron de todas las vacas y 40 animales fueron seleccionados para estudiar la ingestión individual y las concentraciones sanguíneas de hormonas reproductivas. Las vacas se alojaron en dos patios de 200 animales cada uno que eran idénticos en diseño, orientación y localización. Las vacas se ordeñaron tres veces al día.

Se tomaron datos de producción de leche cada 15 días de los tres ordeños usando el sistema Afimilk[®] (S.A.E Afikim, Kibbutz Afikim, Israel). La composición de leche se analizó cada 15 días en un laboratorio certificado por espectrofotometría usando un Milk-O-Scan (Milk-O-Scan 303 AB, Foss Electric, Hillerod, Denmark). Las 40 vacas seleccionadas fueron sincronizadas con una inyección i.m. de GnRH (Gonadorelina 0,1 mg/ml, Fertagyl[®], Intervet Internacional B. V., Bowmeer, Holanda) el día 30 postparto, seguida de una segunda inyección i.m. de PGF_{2 α} (Estrumate[®], Schering-Plough Animal Health, Madrid, España) siete días después y dos días después las vacas recibieron una segunda inyección de GnRH. Se asumió que éste fue el día 0 de un nuevo ciclo. Las vacas que ciclaron correctamente no

fueron inseminadas en este ciclo porque en el día 15 del ciclo recibieron una inyección i.m. de 2 mg de estradiol benzoato (ABCR GMBH & Co. KG, Alemania) al menos tres horas antes de una inyección con 100 UI i.v. de oxitocina (Oxiton 1000 UI, Laboratorios Ovejero, SA[®], León, España) para estimular la producción uterina de PGF_{2α}. Se tomaron muestras de sangre a los -15, 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 min post oxitocina para analizar la concentración de 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2α} (PGFM), metabolito principal de la PGF_{2α}.

Tabla 1. Composición química y en ácidos grasos de las dietas experimentales

	CTR ²	LIN	Semilla de lino
<i>Composición química (% MS)¹</i>			
MS	58,4	58,6	92,3
FND	28,2	27,2	-
FAD	16,2	15,5	-
CNF	40,7	41,1	-
Proteína bruta	17,8	18,0	17,8
EE	5,8	6,3	38,2
Cenizas	7,5	7,4	3,6
<i>Ácidos grasos (% de los AG totales)</i>			
C _{16:0}	25,1	18,9	7,6
C _{18:0}	3,5	4,2	5,2
C _{18:1 cis9}	20,8	20,8	20,0
C _{18:2 c9,c12}	42,0	34,5	14,5
C _{18:3 c9,c12,c15}	5,1	17,6	51,3

¹ MS: materia seca.

² CTR: dieta control; LIN: dieta lino.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo diferencias en ingestión de MS ni en producción de leche entre tratamientos (Tabla 2). En cambio, la producción de leche corregida por grasa fue menor en LIN que en CTR ya que tanto el porcentaje como la producción de grasa fue menor en el grupo LIN comparado con el CTR. Aunque el porcentaje de grasa fue bajo en ambos tratamientos debido probablemente a un nivel bajo de FND y FAD en la dieta, las diferencias entre ambos grupos en el porcentaje de grasa en leche pudieron ser debidas a diferencias entre las fuentes de grasa. El porcentaje de proteína fue mayor en las vacas LIN comparadas con las CTR, probablemente debido a una menor producción numérica en este grupo LIN comparado con el CTR.

La concentración de PGFM, expresada como el valor medio para todos los tiempos de muestreo fue numéricamente menor ($P = 0,16$) para las vacas LIN ($n = 13$, 105,7 pg/ml) comparado con las CTR ($n = 16$, 120,0 pg/ml). Se observó una tendencia a una interacción entre tratamiento y tiempo para la concentración plasmática de PGFM, donde las concentraciones de PGFM tendieron a ser mayores a los 0 y 45 min después de la inyección de oxitocina (Figura 1) para las vacas alimentadas con la dieta CTR comparadas con las alimentadas con la dieta LIN, y no hubo diferencias entre tratamientos para el resto de horas de muestreo. A pesar de los cambios numéricos observados en la secreción de PGFM, no se observaron diferencias en el porcentaje de detección de estro, en la tasa de concepción, en el número de inseminaciones artificiales ni en el intervalo parto inseminación fértil.

CONCLUSIONES

La concentración basal y la secreción uterina de PGFM en respuesta a una inyección de oxitocina tendieron a reducirse en las vacas suplementadas con semilla de lino extrusionada, apoyando la hipótesis de que el incremento de los aportes de AG n-3 en la dieta puede reducir la síntesis uterina de PGF_{2α}. Aunque se esperaba que la reducción en

PGF_{2α} mejorara la tasa de concepción en las vacas LIN, el rendimiento reproductivo no se modificó, quizás debido al alto nivel de producción de estas vacas comparado con el de experimentos anteriores.

Tabla 2. Ingestión de materia seca, producción y composición de la leche.

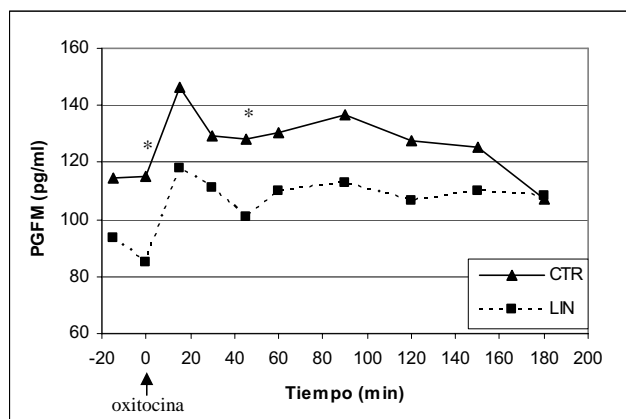
	CTR	LIN	SEM
IMS ¹ D40, kg/d	23,6	22,4	1,34
IMS D90, kg/d	24,6	23,9	1,90
Producción de leche, kg/d	45,6	44,5	0,68
Producción de leche al 4% de grasa, kg/d	37,7 ^a	35,4 ^b	0,64
Grasa, %	2,86 ^a	2,65 ^b	0,06
Producción de grasa, g/d	1303 ^a	1174 ^b	2,99
Proteína, %	3,00 ^a	3,04 ^b	0,02
Producción de proteína, g/d	1364	1350	1,89
Lactosa, %	4,77	4,77	0,02
ESM ² , %	8,51	8,53	0,03
CCS ² , x10 ³ ml ⁻¹	302,3	293,3	38,39

¹Ingestión de material seco individual medida en 40 vacas utilizando alcanos como marcadores en los 40 y 90 DEL.

² ESM: extracto seco magro, CCS: células somáticas.

^{a,b} Medias de una fila con diferente superíndice difieren entre sí ($P < 0,05$).

Figura 1. Concentración plasmática de 13,14-dihydro-15-keto- PGF_{2α} (PGFM) en el día 15 de un estro sincronizado en vacas CTR (n=16) y LIN (n=13).



* La concentración de PGFM tendió a ser más alta en las vacas alimentadas con CTR comparada con las LIN a los 0 y 45 min después de la inyección de oxitocina ($P < 0,10$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abayasekara, D.R.E., Wathes, D.C., 1999. Prost. Leuk. Essent. Fatty acids. 61, 275-287.
 Butler, W.R., 1998. J. Dairy Sci. 81, 2533-2539.
 Moore, K., Thatcher, W.W., 2006. J. Dairy Sci. 89, 1254-1266.
 Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N., 2004. Anim. Reprod. Sci. 82-83C, 513-535.
 Thatcher, W.W., Guzeloglu, A., Mattos, R., Binelli, M., Hansen, T.R., Pru, J.K., 2001. Theriogenology 56, 1435-1450.

EFFECTOS A CORTO Y LARGO PLAZO DE UNA ALIMENTACIÓN CON UN ALTO NIVEL DE LECHE MATERNIZADA DURANTE LA FASE DE LACTANCIA EN TERNERAS DE RECRÍA

Terré, M.¹, Tejero, C.², Bach, A.^{1,3}

¹ Grup de Recerca en Nutrició, Maneig, i Benestar Animal, Unitat de Remugants. E-mail: martaterre@yahoo.es

² Rancho Las Nieves, Mallén. E-mail: caroltejero@hotmail.com

³ ICREA (Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats). E-mail: alex.bach@irta.es

INTRODUCCIÓN

La alimentación de las terneras de reposición para el vacuno lechero durante la fase de lactancia se basa normalmente en leches maternizadas (LM) a un nivel de 0.5 kg/d de LM y una oferta de pienso a discreción. Estos programas de alimentación consiguen unos crecimientos de 0.5 kg/d y se proponen con la finalidad de evitar las diarreas durante la fase de lactancia, estimular el consumo de pienso y reducir los costes de la recría. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que alimentando las terneras con un alto nivel de LM (alrededor de 1 kg/d de LM) y pienso a discreción se consiguen crecimientos de 0.8 a 1 kg diarios durante la fase de lactancia (Diaz *et al.*, 2001; Shamay *et al.*, 2005; Terré *et al.*, 2006). Por otro lado, estos programas de alimentación rica en LM presentan el inconveniente de tener unos costes de alimentación por kg de peso vivo ganado más elevados (1.77 \$/kg vs 1.92 \$/kg, en terneros alimentados convencionalmente y terneros alimentados con mayor cantidad de LM, respectivamente, Quigley *et al.*, 2006). Sin embargo, la mejora de la ganancia de peso durante la fase de recría podría implicar una reducción de la edad al primer parto, hecho que disminuiría los costes totales de la reposición (Ettema y Santos, 2004).

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de una alimentación con un alto nivel de LM durante la fase de lactancia sobre los parámetros productivos en la fase de lactancia y los parámetros reproductivos durante la primera cubrición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sesenta terneras Frisonas (PV 42.9 ± 4.79 kg y edad 9.9 ± 4.61 d) procedentes de distintas granjas de España, llegaron a una granja de terneras de recría (Rancho Las Nieves, Mallén) y fueron distribuidas en 2 grupos: 31 terneras fueron alimentadas durante la lactancia convencionalmente (AC) y 29 terneras con una alimentación con un alto nivel de LM durante la fase de lactancia (AA). Después de una semana de adaptación a la LM (25% PB y 19% EE), las terneras AC fueron alimentadas con 4 l/d de LM al 12% MS, repartidos en 2 tomas diarias del 1 al 27 d de estudio, y 2 l/d de LM en una sola toma diaria del 28 al 34 d de estudio, día en que se destetaron las terneras. Las terneras AA fueron alimentadas con LM al 18% de MS: 4 l/d de LM del 1 al 6 d, 6 l/d de LM del 7 al 13 d, 7 l/d de LM del 14 al 20 d, y 6 l/d de LM del 21 al 27 d repartidos en 2 tomas diarias. Una semana antes del destete (del 28 al 34 d de estudio) se ofrecieron 3 l/d de LM repartidos en una toma diaria. El pienso ofertado (20.7% PB y 3.9% EE) fue el mismo para los 2 tratamientos y se ofreció a discreción. El consumo de pienso fue registrado cada día hasta el 41 d de estudio, momento en que las terneras fueron agrupadas en lotes de 6 animales y se alimentaron con la misma ración ambos tratamientos hasta el día 56 de estudio. A partir de aquí las terneras fueron reagrupadas sucesivamente en lotes mayores, hasta que alcanzaron la edad de 400 d y pesaron más de 380 kg PV, momento en que entraron en el lote de cubrición. En este grupo, los celos se detectaron 2 veces al día, y las terneras se inseminaron 12 horas después de

su detección del celo. Las terneras se pesaron cada semana hasta los 56 días, y después a los 94, 149, 200, y 387 días de estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido al elevado nivel de ingestión de LM, las terneras AA consumieron menos ($P < 0.001$) pienso que las terneras AC durante la fase de lactancia y 1 semana después del destete (Tabla 1). Aun así, al reagrupar las terneras en grupos de 6, no hubo ninguna diferencia de ingestión ($P = 0.46$) de los 42 a los 56 días de estudio. Se observó una mayor ($P < 0.05$) ganancia media diaria (GMD) en las terneras AA en comparación con las terneras AC durante la fase de lactancia. Una vez destetadas no hubo diferencias ($P = 0.65$) de crecimiento entre ambos grupos de animales (Tabla 1). Sin embargo, la evolución de la GMD en el tiempo fue diferente entre ambos grupos. Las terneras AA crecieron más que las terneras AC durante las 3 primeras semanas de estudio, pero la semana antes del destete, al reducir la LM a una toma diaria, las terneras AC crecieron más que las terneras AA. Probablemente, las terneras AC estaban más adaptadas al pienso y al reducir la oferta de la LM, no llegaron a los niveles de ingestión de pienso necesarios para mantener el mismo ritmo de crecimiento que se observó durante la fase de lactancia. Aunque el PV fue superior ($P < 0.05$) en las terneras AA que en las AC durante la fase de lactancia, a los 387 días de estudio no hubo diferencias significativas de PV entre ambos tratamientos.

Tabla 1. Peso vivo, ganancia media diaria, y consumo diario de pienso durante la fase de lactancia, y la semana después del destete en terneras alimentadas convencionalmente (AC) o con un alto nivel de leche maternizada durante la fase de lactancia (AA).

	Tratamiento		SE	P-valor		
	AC	AA		T ¹	semana	T x semana
Lactancia, 1-34 d						
PV inicial, kg	43.6	44.8	1.10	-	-	-
PV, kg	55.9	60.7	1.05	0.002	< 0.001	< 0.001
GMD, kg/d	0.80	0.90	0.031	0.02	< 0.001	< 0.001
Ingestión LM, kg/d	0.41	0.90	0.174	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Ingestión pienso, kg/d	0.79	0.29	0.043	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Post-destete, 35-41d						
PV a los 41 d, kg	79.9	84.5	1.71	0.06	-	-
GMD, kg/d	1.28	1.23	0.071	0.65	-	-
Ingestión pienso, kg/d	2.29	1.76	0.084	< 0.001	< 0.001	< 0.001

¹ T: Tratamiento

La edad y el PV a la cubrición fueron similares para ambos tratamientos (Tabla 2). Aunque la fertilidad a la primera cubrición fue numéricamente superior en las terneras AA que en las terneras AC, esta diferencia no fue significativa (Tabla 2). Otros estudios han descrito una disminución de la entrada en pubertad (Shamay *et al.*, 2005), y de la edad al primer parto (Bar-Peled *et al.*, 1997, Davis Rincker *et al.*, 2006). Probablemente, el manejo reproductivo en cada uno de los estudios pueda explicar los distintos resultados. Por ejemplo, Shamay *et al.* (2005) sincronizaba las terneras a los 13 meses de edad independientemente de su PV, y por otro lado Bar-Peled *et al.* (1997) tenía como objetivo la primera cubrición con un PV superior a 330 kg. En cambio, el presente estudio determinó el inicio de la cubrición a una edad de 400 d con un PV superior a 380 kg.

Tabla 2. Edad, peso vivo y fertilidad en la primera cubrición de terneras alimentadas convencionalmente (AC) o con un alto nivel de leche maternizada durante la fase de lactancia (AA).

	Tratamiento		SE	P-valor
	AC	AA		Tratamiento
Edad 1ª cubrición, d	429	430	4.4	0.81
Peso vivo a la 1ª cubrición, kg	431	446	12.5	0.40
Fertilidad 1ª cubrición, %	53.3	64.3	-	0.40

CONCLUSIONES

A pesar de un mayor incremento de peso vivo en las terneras alimentadas con un alto nivel de leche maternizada durante la fase de lactancia en comparación con las terneras alimentadas convencionalmente, no se observaron mejoras en la eficiencia reproductiva en la primera cubrición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bar-Peled, U., B. Robinzon, E. Maltz, H. Tagari, Y. Folaman, I. Bruckental, H. Voet, H. Gacitua, y A. R. Lehrer. 1997. Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein heifer calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. *J. Dairy Sci.* 80:2523-2528.
- Davis Rincker, L., M. VandeHaar, C. Wolf, J. Liesman, L. Chapin, y M. Weber Nielsen. 2006. Effects of an intensified compared to a moderate feeding program during the preweaning phase on long-term growth, age at calving, and the first lactation milk production. *J. Dairy Sci.* 89 (Suppl. 1): 438. Abstract.
- Diaz, M. C., M. E. Van Amburgh, J. M. Smith, J. M. Kelsey, y E. L. Hutten. 2001. Composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. *J. Dairy Sci.* 84: 830-842.
- Ettema, J. F., y J. E. P. Santos. 2004. Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. *J. Dairy Sci.* 87: 2730-2742.
- Quigley, J. D., T. A. Wolfe, y T. H. Elsasser. 2006. Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *J. Dairy Sci.* 89:207-216.
- Shamay, A., D. Werner, U. Moallem, H. Barash, y I. Bruckental. 2005. Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate, and milk production during first lactation of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 88:1460-1469.
- Terré, M., M. Devant and A. Bach. 2006. Performance and Nitrogen metabolism of calves fed conventionally or following an enhanced-growth feeding program during the preweaning period. *Livest. Sci.* 105: 109-119.

SUPRESIÓN DE LA PAJA DE CEREAL EN EL CEBO DE TERNEROS. EFECTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO DE LOS ANIMALES*

Faleiro, A. G., Ferret, A., Manteca, X., Ruiz de la Torre, J. L. y Calsamiglia, S.
Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. Alfred.Ferret@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los terneros en nuestros cebaderos son alimentados mayoritariamente con pienso y paja de cereal, en una proporción media 90:10 de pienso y de forraje. Una baja ingestión de forraje se ha asociado a la aparición de trastornos metabólicos (Sudweeks *et al.*, 1981, Yang y Beauchemin, 2006), atribuidos a la falta de fibra capaz de estimular la masticación (Woodford y Murphy, 1988). La actividad masticatoria está positivamente relacionada con la producción de saliva (Sudweeks, 1977) y con ella la producción de sustancias tampón que ayudan a neutralizar la bajada del pH ruminal como consecuencia de la elevada producción de AGV originados por la rápida fermentación de elevadas cantidades del almidón que aporta el pienso. Actualmente, algunos ganaderos han empezado a prescindir de la paja como fuente de fibra en la alimentación de terneros, de manera que éstos consumen sólo la fibra que aporta el concentrado. El objetivo de este trabajo fue el estudiar con animales individualizados los efectos de la supresión de la paja de cereal sobre el comportamiento de ingestión en terneras en cebo intensivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ocho terneras Holstein, con un peso vivo inicial de 140 ± 24 kg y provistas de trocar ruminal, fueron asignadas al azar a los dos tratamientos experimentales: cebo con paja (**CON**) *versus* cebo sin paja (**SIN**). Todas las terneras fueron alimentadas *ad libitum* con el mismo pienso, compuesto (% s.m.s.) básicamente de: cebada (31,4), maíz (32,2), torta de soja (8,0), gluten feed (9,0), pulpa de remolacha (16,0) y un complejo mineral-vitamínico (3,4). La composición química (s.m.s.) del pienso fue: 2,9 Mcal de EM/kg, 14,9% PB, 24,2% FND y 11,4% FAD. Las terneras del tratamiento CON recibieron, a parte del pienso, paja de cebada que se les ofreció para mantener la proporción 90:10 de pienso:forraje. El experimento consistió en 4 periodos experimentales de una duración igual a 28 días. En cada uno de ellos, y durante 3 días, se realizó por filmación el registro de imágenes para posterior análisis del comportamiento de los animales. Para la estimación del tiempo utilizado en cada conducta se filmaron 30 segundos cada 5 minutos. Las conductas generales estudiadas fueron: comer, rumiar, beber, descansar y interactuar. Los datos fueron analizados usando la función PROC MIXED del SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, v 8.2, 1999). En el modelo para medidas repetidas, el animal fue considerado como efecto aleatorio, siendo los demás efectos considerados como fijos. Los datos en porcentaje fueron transformados en arco seno de la raíz para su posterior análisis. Se consideraron diferencias significativas con un valor de $P < 0,05$ y tendencias con un $P < 0,10$.

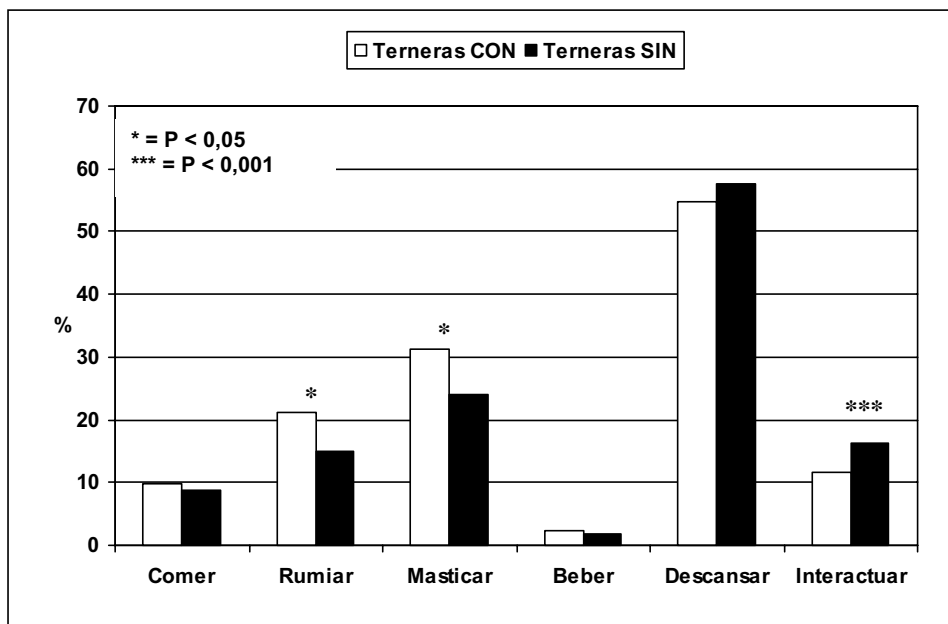
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las terneras de ambos tratamientos destinaron el mismo tiempo a comer ($9,4 \pm 0,03$ %; Figura 1). Sin embargo al considerar sólo el tiempo a ingerir el pienso, las terneras del tratamiento SIN tendieron a destinar más tiempo a comer que las terneras del tratamiento CON (8,9 y 7,1 %, respectivamente; $P = 0,06$). A pesar de que la ingestión de pienso fue la misma en ambos grupos de terneras (Faleiro *et al.*, 2007), las terneras que sólo recibían pienso destinaron más tiempo a comer, es decir la ingestión se realizó más lentamente.

* Experimento del Proyecto INIA RTA04-011-C2

Con el tiempo dedicado a rumiar las diferencias fueron significativas ($P = 0,02$), siendo más elevado el tiempo que las terneras en el tratamiento CON (21,3%) destinaron a rumiar que las del tratamiento SIN (15,1%). El tiempo total dedicado a la masticación fue más elevado en las terneras del tratamiento CON (31,2%) que en las terneras del tratamiento SIN (24%). La menor actividad de masticación registrada en las terneras del tratamiento SIN, implicaría una menor salivación (Sudweeks, 1977), explicando el pH ruminal medio más bajo observado en estas terneras (Faleiro *et al.*, 2007). A pesar de que la ingestión de pienso fue la misma en ambos tratamientos, los 0,5 kg de paja de cebada que de media ingirieron las terneras del tratamiento CON fue suficiente para provocar diferencias significativas de ingestión de FAD (Faleiro *et al.*, 2007), convirtiéndose en la ingestión de fibra efectiva necesaria para neutralizar la elevada producción de ácidos grasos volátiles que aconteció y evitar una mayor caída del pH ruminal (Faleiro *et al.*, 2007).

Figura 1. Tiempo (en porcentaje) dedicado al día a las actividades de comer, rumiar, beber, descansar y interactuar.

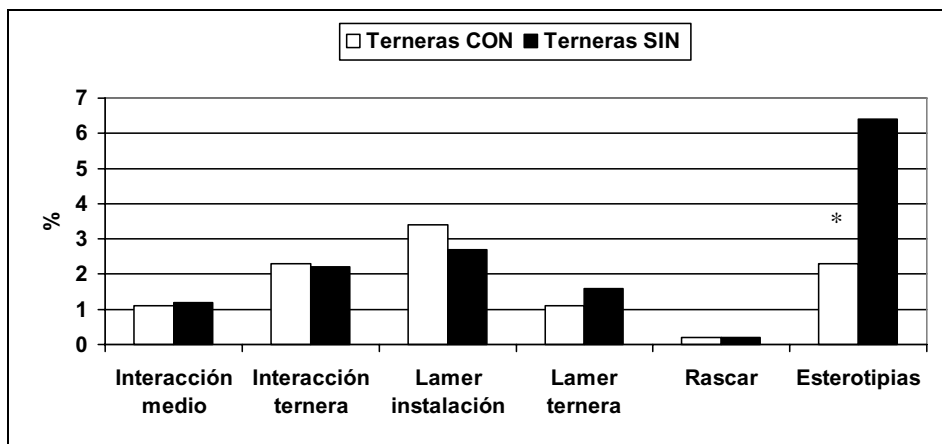


El tiempo dedicado a beber fue el mismo en ambos grupos de terneras siendo la media de un 2%, así como el tiempo destinado a descansar, que fue de un 56,2%. Sin embargo, aunque el tiempo total de descanso fue el mismo, las terneras del tratamiento CON descansaron más tiempo de pie ($P = 0,02$) que las terneras del tratamiento SIN (11,8 y 9,3 %, respectivamente) y tendieron ($P = 0,08$) a descansar menos tumbadas (42,8 y 48,1 %, respectivamente).

Las terneras del tratamiento SIN interactuaron más que las terneras del tratamiento CON (16,2 y 11,5 %, respectivamente; $P < 0,001$). Las interacciones se subdividieron, a su vez, en distintas

actividades: interacción con el medio, interacción con otra ternera, lamer las instalaciones, lamer a otra ternera, rascarse con las instalaciones y estereotipias (Figura 2). Como estereotipias entendemos aquellas conductas no conducentes a ningún objetivo concreto.

Figura 2. Tiempo (en porcentaje) dedicado a interactuar con el medio, con otras terneras o con ellas mismas.



El fraccionamiento del tiempo dedicado a interactuar permitió conocer que la interacción con el medio o con otras vecinas no fue diferente entre tratamientos. Sin embargo, la presentación de estereotipias fue más elevada ($P = 0,04$) en las terneras del tratamiento SIN que en las del tratamiento CON (6,4 y 2,3 %; respectivamente). La presencia de estereotipias se considera una evidencia de un menor bienestar en los animales que las presentan y se han asociado a una baja ingestión de forraje (Rebdo y Nordblad, 1997). Esta falta de bienestar contrasta con el hecho que las terneras de ambos tratamientos tuvieron una idéntica ganancia media diaria (Faleiro *et al.*, 2007). Los resultados presentados nos permiten concluir que la supresión de la paja de cereal en los cebaderos de terneros reduce el tiempo de rumia y de masticación total en los animales y aumenta la aparición de estereotipias aún sin afectar los resultados productivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Faleiro, A. G., Ferret, A., Manteca, X., Ruiz de la Torre, J. L. y Calsamiglia, S. 2007. Annual Meeting of American Society of Animal Science (submitted)
- Rebdo, I. y Nordblad A., 1997. Applied Animal Behaviour Science 53:193.
- Sudweeks, E. M., 1977. J. Animal Science 44: 694.
- Sudweeks, E. M., McCullough, M. E., Sisk, L. R. y Law, S. E., 1981. J. Animal Science: 41:219.
- Woodford, S. T. y Murphy, M. R., 1988. J. Dairy Science 71:674.
- Yang, W. Z. y Beauchemin, K. A., 2006. J. Dairy Science 89:2694.

EFFECTOS DEL NÚMERO DE ESPACIOS EN COMEDERO DE PIENSO POR CORRAL SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL EN TERNEROS DE CEBO INTENSIVO *¹

González, L. A.¹, Ferret, A.¹, Manteca, X.¹, Ruíz de la Torre, J. L.¹, Calsamiglia, S.¹,
Devant, M.², Bach, A.²

¹ Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra. Alfred.Ferret@uab.cat

² Unitat de Remugants-IRTA, 08140 Caldes de Montbui

INTRODUCCIÓN

En condiciones de cebo intensivo los terneros son alimentados con raciones con mucho concentrado y en corrales con una elevada densidad de animales. A menudo se considera que el tipo de ración es el factor causante de la mayor parte de los problemas digestivos (acidosis y timpanismo), mientras que la alta densidad de animales puede aumentar la competencia por recursos dentro del grupo. Este elevado estrés social puede traducirse en pérdidas de producción (Wierenga, 1990). Algunos autores destacaron que, a pesar de la gran cantidad de experimentos que estudiaron cómo el tipo de ración puede afectar a la aparición de trastornos digestivos, poco se conoce sobre el efecto que pueden tener el comportamiento de la alimentación y el comportamiento social sobre el funcionamiento ruminal (Galyean y Eng, 1998). De esta manera, el diseño de las instalaciones, así como la disponibilidad de espacios en comedero, podrían afectar la aparición de problemas digestivos y aumentar el estrés social, produciendo pérdidas en la producción. A su vez, es posible que estas pérdidas productivas sean mas evidentes en animales subordinados que en aquellos dominantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del número de espacios en comedero de pienso sobre la producción, las características de la canal y el funcionamiento ruminal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 terneras frisonas (104.3 ± 1.1 d de edad, 102.0 ± 1.8 kg de peso) que fueron asignadas a un diseño 3×3 en bloques completos al azar. Tras la llegada de los animales a las instalaciones experimentales, los mismos fueron distribuidos al azar en cada uno de los tres tratamientos de un bloque, según su peso vivo y después de 24 h de ayuno. Los animales se distribuyeron con la finalidad de obtener igual desviación estándar y media de peso vivo entre corrales de un mismo bloque. El estudio constó de 7 periodos experimentales de 28 d cada uno y todas las terneras fueron llevadas hasta el peso de sacrificio. Se colocaron 8 terneras/corral y los tratamientos fueron de 1 (T1), 2 (T2) y 4 (T4) espacios en comedero de pienso por corral. Solo una ternera podía comer a la vez de cada espacio. Cada corral constaba de una zona de descanso y una de alimentación donde estaban los comederos de pienso, dos rastrillos de paja y dos bebederos. La alimentación fue *ad libitum* con un pienso comercial compuesto por 31,4% de cebada, 28,8% de maíz, 15,1% de gluten feed, 9,4% de harina de soja, 6,6% de cascarilla de soja, 4% de girasol, 2,1% de aceite de palma y 2,6% de complementos vitamínicos y minerales (3 Mcal de EM/kg; 16,2% PB; 5,4% GB; 20,4% FND); y paja de cebada (90,7 % MS, 73,4 % FND, 43,8 % FAD, 8,7 % LAD, 4,84 % PB). La distribución diaria de alimentos se hizo a las 0830 h. Se registró la ingestión de materia seca (IMS) de pienso y paja por diferencia entre la cantidad ofrecida y rechazada. El peso vivo se registró 1 vez por período experimental para calcular la ganancia media diaria (GMD). Se obtuvieron muestras de rumen por rumenocentesis para la medición del pH los días 21, 22 y 23 de cada período experimental y de todos los animales, según bloque de peso vivo. Las muestras ruminales se tomaron a las 8 horas post-alimentación. Cuando el peso vivo medio de cada bloque llegó al peso de matadero, aproximadamente 380 kg, los animales fueron

* Experimento del proyecto "Welfare Quality" de VI Programa Marco de la UE

sacrificados en un matadero comercial y las características de la canal fueron registradas (SEUROP), junto al número de abscesos hepáticos. Los datos se analizaron con un modelo mixto, considerando los efectos fijos del tratamiento y bloque, mientras que los efectos aleatorios fueron el período experimental (medida repetida) y el corral. El corral fue la unidad experimental en todos los análisis. Se obtuvieron la media y la desviación estándar de cada corral para analizar el efecto de los tratamientos sobre la variabilidad del crecimiento de los animales que compartan un mismo corral.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ingestión de pienso fue menor ($P < 0,05$) cuando hubo un espacio (T1) de comedero por corral comparada con aquellos corrales con 2 (T2) o 4 (T4) espacios (Tabla 1). La misma tendencia fue observada para la IMS total ($P = 0,06$) pero no se observaron efectos sobre la IMS de paja ($P > 0,10$). Estos efectos fueron más notables en los primeros meses del cebo. Sin embargo, ni la GMD ni la eficiencia de conversión se vieron afectadas por los tratamientos ($P > 0,10$). El peso vivo a lo largo del experimento tendió ($P = 0,10$) a verse afectado por los tratamientos, con T1 mostrando los menores valores. Además, la interacción entre tratamiento y período ($P < 0,01$) sobre el peso vivo indicó que los efectos fueron particularmente importantes en el segundo y tercer mes del cebo. Esto se vio reflejado por una mayor desviación estándar del peso vivo dentro de cada corral ($P < 0,05$), lo que podría indicar que cuando hubo poco espacio en comedero de pienso hubo mayor variación de peso vivo entre los animales que compartían un mismo corral. Inesperadamente, ni la GMD ni la desviación estándar intra-corral de la GMD se vieron afectadas ($P > 0,10$). Zinn (1989) trabajó con terneros de cebo asignándoles entre 15 y 60 cm/animal en corrales de 4 individuos. Este autor no observó ningún efecto sobre la ingestión o el crecimiento, ni en la variabilidad intra-corral del mismo. Contrariamente, en el presente trabajo una mayor variabilidad de peso vivo podría indicar que algunos animales dentro del grupo pudieron verse afectados negativamente al reducirse el número de espacios disponibles en comedero.

El pH ruminal tampoco mostró diferencias significativas al variar el número de espacios en comedero de pienso y los valores encontrados se corresponden a los usualmente observados a la mitad del ciclo diario con este tipo de animales y raciones. Sin embargo, cabe destacar que el pH ruminal aumentó con la edad ($P < 0,05$).

Tabla 1. Efecto del número de espacios en comedero de pienso sobre la ingestión de materia seca, la producción y el pH ruminal.

Item	Tratamiento			EEM	P
	T1	T2	T4		
Pienso, kg/d	5.35 ^x	5.74 ^y	5.76 ^y	0.07	0.02
Paja, kg/d	0.77	0.76	0.68	0.07	0.62
Total MS, kg/d	6.19	6.45	6.42	0.09	0.06
Eficiencia conversión, kg/kg	5.25	5.26	5.25	0.08	0.99
Peso vivo, kg/animal	223.9	234.2	232.1	2.71	0.10
DE Peso vivo, kg/animal ¹	23.81 ^x	21.66 ^x	17.62 ^y	1.01	<0.001
GMD, kg/d	1.173	1.218	1.219	0.028	0.49
DE GMD, kg/d ¹	0.240	0.251	0.217	0.025	0.67
pH ruminal	5.55	5.55	5.66	0.09	0.65

¹ Desviación estándar del peso vivo o GMD entre los animales de un mismo corral.

Aunque los animales con 2 y 4 espacios de comedero llegaron con aproximadamente 14 kg/animal más en el peso vivo final, no hubo diferencias significativas (Tabla 2). De cualquier manera, ésta diferencia de pesos fue observada a lo largo de todo el experimento (Tabla 1). Tampoco hubo diferencias significativas en el peso de la canal caliente ni en su rendimiento ($P > 0,10$). Los animales bajo el tratamiento con solo un espacio de comedero por corral se pagaron, en promedio, 32 €/animal menos que aquellos en corrales con 4 espacios de comedero ($P = 0,57$).

En cuanto al número de hígados con abscesos se observó un mayor porcentaje en T1 comparado a T2 (Tabla 2). Se ha demostrado que un bajo pH ruminal favorece la aparición de abscesos en hígado debido al daño producido en la pared ruminal (Owens *et al.*, 1998). Sin embargo, en base a los resultados presentados en este trabajo no se puede afirmar que el pH haya sido el causante, aunque si se observó un menor pH ruminal en T1 y T2 en los periodos 2 y 3 ($P < 0,05$). La clasificación del nivel de engrasamiento del matadero fue idéntica para todos los tratamientos. Sin embargo, tanto los tratamientos T1 como T2, aunque no el T4, contaron con una ternera clasificada como "R" de conformación, aunque estos datos no se hayan analizado estadísticamente debido al bajo número de observaciones.

En conclusión, disminuir el número de animales de 8 a 2 por cada lugar disponible en el comedero de pienso no afectó a la producción media aunque algunos animales individuales podrían verse afectados negativamente, particularmente en los primeros meses del cebo. Se observaron pocos efectos sobre las características de la canal pero la incidencia de abscesos hepáticos aumentó cuando hubo 8 animales por cada espacio de comedero, sin observarse efectos significativos sobre el pH ruminal medio.

Tabla 2. Efecto del número de espacios en comedero de pienso sobre las características de la canal y otros parámetros en matadero.

Item	Tratamiento			SEM	P
	T1	T2	T4		
Peso vivo final, kg/animal	380.6	394.4	393.5	5.48	0.22
Peso canal, kg/animal	196.3	198.2	202.3	4.39	0.63
Rendimiento canal, %	51.6	50.3	51.4	0.57	0.31
Precio, €/animal	559.3	584.1	591.5	21.0	0.57
Abscesos hepáticos, %	20.8 ± 6 ^x	4.2 ± 3 ^y	8 ± 4 ^{xy}	-	0.07
Grasa, 2/3 ¹	1/23	1/23	1/23	-	-
Conformación, R/O/P ¹	1/22/1	1/22/1	0/23/1	-	-

¹ Número de animales en cada categoría de clasificación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Galyean, M. L., Eng, K. S. 1998. Application of research findings and summary of research needs: Bud Britton Memorial Symposium on metabolic disorders of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 1998. 76:323–327.
- Owens, F. N., Secrist, D. S., Hill, W. J., Gill, D. R. 1998. Acidosis in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 1998. 76:275–286.
- Wierenga, H.K. 1990. Social dominance in dairy cattle and the influences of housing and management. *Applied Animal Behaviour Science* 27:201-229.
- Zinn, R. A. 1989. Manger space requirements for limit-fed feedlot steers. *J. Anim. Sci.* 67:853-857.

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA DIETA DE OVEJAS LECHERAS CON ACEITE DE SOJA SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO DE LOS ANIMALES Y EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y LA COMPOSICIÓN DE CLA DE LA LECHE

Hervás, G.¹, Gómez-Cortés, P.², Frutos, P.¹, Juárez, M.², Mantecón, A.R.¹, de la Fuente, M.A.²

¹ Estación Agrícola Experimental. CSIC. Finca Marzanas. 24346 Grulleros. León

² Instituto del Frío. CSIC. José Antonio Novais 10. 28040 Madrid

* Correo electrónico: hervas@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

El ácido linoleico conjugado (CLA) ha suscitado interés en la comunidad científica, sobre todo durante esta última década, debido a sus potenciales efectos beneficiosos para la salud humana (Bauman *et al.*, 2006).

El principal isómero del CLA es el ácido ruménico (*cis*-9 *trans*-11, RA) que se forma en el rumen a partir del ácido linoleico (C18:2) presente en la dieta de los animales. Sin embargo, sus contenidos totales en la grasa de la leche no se justifican únicamente por su síntesis ruminal, sino que la mayor parte se debe a su síntesis endógena a partir del ácido *trans*-11 C18:1 o ácido vacénico (VA) producido en el rumen durante la biohidrogenación (BH) de los ácidos grasos y por medio de la enzima Δ^9 desaturasa (Griinari y Bauman, 1999).

Cuando se intenta aumentar el contenido de CLA en la grasa de la leche de los rumiantes, se ha demostrado que la suplementación de la dieta con fuentes lipídicas adicionales es una estrategia nutricional muy prometedora (Khanal y Olson, 2004). Sin embargo, la mayoría de los trabajos se han llevado a cabo con ganado vacuno o caprino, y la información existente en relación al ovino es aún escasa y cuestionable. En este sentido, se sabe que aunque existen muchas semejanzas entre distintas especies de rumiantes, también se pueden observar diferencias substanciales en cuanto al efecto de los suplementos lipídicos sobre la síntesis de ácidos grasos de la leche (Chilliard *et al.*, 2003).

Por otro lado, la utilización de estos suplementos en algunas raciones puede alterar el proceso de fermentación ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1997) y afectar negativamente al rendimiento productivo de los animales.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la suplementación de la dieta de ovejas lecheras con aceite de soja sobre el rendimiento productivo de los animales y el perfil de ácidos grasos de la leche, incluyendo la composición del CLA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este experimento se utilizaron 24 ovejas de raza Assaf española, distribuidas en función de su peso vivo y nivel de producción de leche, en 4 lotes experimentales: dos actuaron como control (grupo Control) y los otros dos recibieron el tratamiento experimental (grupo Soja).

Las condiciones experimentales a lo largo de todo el experimento (3 semanas) fueron las mismas para todos los animales [éstos fueron alimentados *ad libitum* con una dieta mixta (PB=179 g/kg MS; FND=206 g/kg MS), ordeñados dos veces al día, y dispusieron en todo momento de agua limpia y de un bloque corrector vitamínico-mineral], excepto que la dieta mixta (relación forraje:concentrado 20:80) de los animales del tratamiento Soja estaba suplementada con un 6% de aceite de soja (SIMSA, Madrid).

Tanto la ingestión de alimento como la producción de leche fueron registradas semanalmente. Con la misma frecuencia, se recogió una muestra de leche de cada animal para analizar su composición química convencional (grasa, proteína y extracto seco). Así mismo, se tomó otra muestra de la leche producida por cada lote experimental para analizar el perfil de ácidos grasos (incluyendo la composición del CLA) (Hervás *et al.*, enviado).

El efecto del tratamiento de la dieta de los animales (D) y el de la semana experimental (S) se analizaron mediante un análisis de medidas repetidas en el tiempo utilizando los datos

obtenidos en la semana 0 como covariable. Para ello se utilizó el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversos trabajos (Chilliard *et al.*, 2001; 2003; Shingfield *et al.*, 2006) han demostrado que la suplementación de la dieta de los rumiantes con fuentes lipídicas adicionales puede reducir la ingestión de alimento y la consiguiente producción de leche. Sin embargo, en este trabajo, la adición de un 6% de aceite de soja a la dieta no ejerció ningún efecto significativo ($P>0,10$) ni sobre la ingestión de alimento ni sobre la producción de leche (Tabla 1).

Tabla 1.- Efecto de la alimentación del ganado ovino lechero con la dieta control o suplementada con un 6% de aceite de soja sobre la ingestión de alimento y la producción y composición clásica de la leche.

	Dieta			Nivel de significación		
	Control	Soja	eed	D	S	D×S
Ingestión de MS (kg/d)	2,07	2,33	0,110	ns	***	ns
Producción de leche (kg/d)	1,70	1,73	0,062	ns	ns	ns
Composición (%)						
Grasa	5,40	5,72	0,172	ns	ns	ns
Proteína	5,15	4,61	0,153	ns	ns	ns
Extracto seco	16,21	16,39	0,195	ns	ns	ns
Producción (g/d)						
Grasa	90,5	94,2	1,37	ns	ns	ns
Proteína	84,3	81,0	2,70	ns	ns	ns
Extracto seco	278,9	273,6	6,73	ns	ns	ns

eed, error estándar de la diferencia; D, efecto de la dieta; S, efecto de la semana experimental. ns = no significativo ($P>0,10$); *** = $P<0,001$.

Tampoco se observó ningún efecto de la suplementación con aceite de soja sobre la composición clásica de la leche (Tabla 1). No obstante, conviene mencionar que aunque el uso de aceites vegetales ricos en ácido linoleico (como es el aceite de soja) se considera una estrategia nutricional efectiva (Khanal y Olson, 2004) para incrementar el contenido de RA, algunos estudios con ganado vacuno han demostrado que la adición de estos aceites puede reducir el contenido de grasa láctea (Chilliard *et al.*, 2001; Shingfield *et al.*, 2006) debido, posiblemente, a su efecto negativo sobre el proceso de fermentación ruminal (alterando el patrón de BH de los ácidos grasos) y a la producción en el rumen de determinados metabolitos intermedios de la BH que inhiben la síntesis de grasa en la glándula mamaria (Palmquist *et al.*, 2005; Griinari y Bauman, 2006).

En relación al perfil de ácidos grasos de la leche (Tabla 2), el tratamiento con aceite de soja redujo la secreción de ácidos grasos saturados, debido fundamentalmente a una reducción en los contenidos de C4-C14 y C16 y aumentó la de ácidos grasos insaturados. Esto provocó que, desde el punto de vista nutricional, la leche obtenida de los animales del tratamiento Soja fuera más saludable y, al igual que ocurre en otras especies de rumiantes (Chilliard *et al.*, 2003; Shingfield *et al.*, 2006) redujera su índice de aterogenicidad.

Además, la adición de aceite de soja aumentó significativamente ($P<0,01$) la secreción de RA y VA (Tabla 2) a lo largo de toda la prueba. Esta respuesta es similar a la observada en cabras (Chilliard y Ferlay, 2004), pero diferente a la del ganado vacuno (Shingfield *et al.*, 2006) en donde al suplementar la dieta con aceite de girasol (también rico en ácido linoleico) el contenido de estos ácidos grasos declinaba considerablemente tras 2 semanas de tratamiento.

Por otra parte, podría destacarse que el aumento del *trans*-10 *cis*-12 CLA, que en ganado vacuno es un potente inhibidor de la síntesis de grasa láctea (Griinari y Bauman, 2006), en este caso no ejerció ningún efecto significativo. No obstante, debería mencionarse que otros autores han observado recientemente (Lock *et al.*, 2006), en ganado ovino, una reducción del contenido de grasa al suplementar la dieta con este isómero del CLA; aunque aún existe una importante controversia al respecto.

Tabla 2. Efecto de la alimentación del ganado ovino lechero con la dieta control o suplementada con un 6% de aceite de soja sobre el perfil de ácidos grasos de la leche (AG; %).

	Dieta			Nivel de significación		
	Control	Soja	eed	D	S	D×S
≤C14	34,77	28,68	2,564	†	ns	ns
C16	27,96	22,30	0,703	***	ns	ns
C18	4,86	7,60	1,237	†	ns	ns
C18:1 <i>cis</i> -9	12,18	15,31	0,999	*	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -10	1,90	6,06	2,990	ns	ns	ns
C18:1 <i>trans</i> -11 (VA)	2,08	6,20	0,928	**	**	**
C18:2 <i>cis</i> -9 <i>cis</i> -12	2,70	3,46	0,224	*	†	ns
CLA <i>cis</i> -9 <i>trans</i> -11 (RA)	1,04	3,44	0,330	**	†	ns
CLA <i>trans</i> -10 <i>cis</i> -12	0,01	0,08	0,017	**	ns	ns
<i>Resumen</i>						
AG Saturados	73,98	57,29	1,883	***	ns	ns
AG Monoinsaturados	20,85	34,02	1,204	***	ns	ns
AG Poliinsaturados	5,04	8,82	2,021	ns	ns	ns
Índice Aterogénico	3,08	1,52	0,159	†	ns	ns

eed, error estándar de la diferencia; D, efecto de la dieta; S, efecto de la semana experimental.

Índice Aterogénico = $(C12 + 4 \times C14 + C16) / (\Sigma \text{AG insaturados})$.

ns = no significativo ($P > 0,10$); † = $P < 0,10$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$.

Por lo tanto, podría concluirse que la suplementación de la dieta de ganado ovino lechero con un 6% de aceite de soja aumenta el contenido de CLA en la grasa de la leche, sin que el rendimiento productivo de los animales se vea afectado, y mejorando el índice de aterogenicidad de la leche. No obstante, quedaría pendiente el estudio más en profundidad del incremento de los isómeros *trans*-10 C18:1 y *trans*-10 *cis*-12 CLA y de sus posibles efectos negativos para la salud de los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (AGL2005-04760) y la Comunidad Autónoma de Madrid (S-0505/AGR/000153).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauman DE, Lock AL, Corl BA, Ip C, Salter AM, Parodi PW. 2006. In: *Ruminant Physiology*. Wageningen Academic (Holanda).
- Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. *Livest. Prod. Sci.* 70, 31-48.
- Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J, Lambere G. 2003. *J. Dairy Sci.* 86, 1751-1770.
- Chilliard Y, Ferlay A. 2004. *Reprod. Nutr. Dev* 44, 467-492.
- Griinari JM, Bauman DE. 1999. In: *Advances in CLA Research*. AOCS (USA).
- Griinari JM, Bauman DE. 2006. In: *Ruminant Physiology*. Wageningen Academic (Holanda).
- Harfoot CG, Hazlewood GP. 1997. In: *The rumen Microbial Ecosystem*. Blackie Academic & Professional (Reino Unido).
- Hervás G, Luna P, Mantecón AR, Castañares N, de la Fuente MA, Juárez M, Frutos P. *J. Dairy Sci.* (enviado).
- Khanal RC, Olson KC. 2004. *Pakistan J. Nutr.* 3, 82-98.
- Lock AL, Teles BM, Perfield JW, Bauman DE, Sinclair LA. 2006. *J. Dairy Sci.* 89, 1525-1532.
- Palmquist DL, Lock AL, Shingfield KJ, Bauman DE. 2005. *Adv. Food Nutr. Res.* 50, 179-217.
- SAS. 1999. *SAS/STAT Users Guide* (Release 8.0). SAS Inst., Inc., Cary, NC (USA).
- Shingfield KJ, Reynolds CK, Hervás G, Griinari JM, Grandison AS, Beever DE. 2006. *J. Dairy Sci.* 89, 714-732.

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE UREA A LA CEBADA EN GRANO SOBRE LA SELECCIÓN DE LA DIETA, EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS CRIADOS EN SISTEMAS DE LIBRE ELECCIÓN DE ALIMENTOS

Rodríguez, A.B., López-Campos, O., Hervás, G., Lavín, P., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J.
Estación Agrícola Experimental de León. CSIC. Finca Marzanas, 24346 Grulleros, León
e-mail: (o.lopezcampos@eae.csic.es)

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han puesto de manifiesto que los corderos cebados en sistemas de libre elección de alimentos (p.e. administrando a voluntad un suplemento energético, generalmente cebada en grano, y un suplemento proteico) y sin forraje presentan índices de conversión y rendimientos productivos similares a los de aquellos otros criados en sistemas convencionales, basados en la administración de paja de cereal y pienso compuesto (Askar, 2004, Rodríguez *et al.*, 2007).

En los sistemas de libre elección, sin embargo, también se ha observado que el consumo de proteína es, en teoría, muy elevado y esta circunstancia puede tener un impacto económico y ambiental negativo (Vérité y Delaby, 2000; Rodríguez *et al.*, 2007). La causa de este comportamiento, no obstante, se desconoce y podrían estar implicados múltiples factores.

El presente trabajo se planteó para estudiar si la adición de urea a la cebada y, en consecuencia, un aumento del contenido de proteína degradable del suplemento energético, influye en la selección de dieta y en el rendimiento productivo de los corderos criados en sistemas de libre elección de alimentos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de esta prueba se utilizaron 24 corderos machos de raza Merina con un peso inicial de $15,4 \pm 0,21$ kg. Los animales fueron alojados de forma individual y distribuidos, en función del peso en dos grupos experimentales. Los animales de ambos grupos recibieron por separado y a voluntad torta de soja, corrector vitamínico-mineral y cebada en grano (grupo C) o cebada en grano suplementada con urea (grupo CU). La adición de urea a la cebada en grano se efectuó rociando ésta con una solución de urea (1,7 kg urea/100 kg de MS de cebada). La Tabla 1 recoge la composición química y el contenido energético de los alimentos experimentales.

Tabla 1. Composición química de los alimentos

	MS (%)	PB (g/kgMS)	FND (g/kgMS)	Cen (g/kgMS)	EB (Mcal/kgMS)
Torta Soja	89,9	470,4	117,7	80,8	4,72
Cebada	89,0	123,7	213,1	26,4	4,44
Cebada+Urea	86,7	156,1	184,7	23,7	4,49

La administración de cada uno de los alimentos experimentales y la recogida de los restos no consumidos se realizó diariamente. Los animales fueron pesados 3 veces por semana, siendo sacrificados al alcanzar los 25 kg de peso. A continuación del sacrificio se pesaron los componentes de la no canal así como la canal caliente. Transcurridas 24 horas, se tomó el peso de la canal fría para estimar las pérdidas por oreo y el rendimiento comercial. Sobre la canal entera se realizó la valoración subjetiva de la conformación de la canal y las medidas morfométricas: anchura de la grupa y longitud externa de la canal, siguiendo los procedimientos descritos por Colomer-Rocher *et al.* (1988). El estado de engrasamiento de la canal se realizó de acuerdo al Reglamento CEE nº 1278/94 para canales ligeras. Sobre la canal izquierda se realizó el despiece comercial normalizado descrito por Colomer-Rocher *et al.* (1988). La composición tisular de la espalda se determinó

siguiendo el método descrito por Fisher y De Boer (1994). Los tejidos obtenidos, cuyo peso se registró, fueron los siguientes: músculo, grasa subcutánea, grasa intermuscular, hueso y otros.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de ingestión de materia seca total y de cada uno de los alimentos ofertados, así como los datos relativos a la canal para cada uno de los grupos experimentales se presentan en la Tabla 2.

No se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) en el consumo total de materia seca o de torta de soja. Sin embargo, las diferencias observadas en el consumo de cebada mostraron una tendencia a la significación ($P<0,10$), correspondiendo los mayores valores a los corderos del grupo CU. Este incremento podría estar relacionado con una mejor sincronización entre la fermentación de los hidratos de carbono y la degradación de la proteína (Ørskov *et al.*, 1971).

Tabla 2. Ingestión, ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión de la materia seca (IC) y características de la canal para los diferentes tratamientos experimentales

	Cebada	Cebada+Urea	Nivel de significación
Ingestión total (g·MS d ⁻¹)	823	884	ns
Ingestión torta soja (g·MS d ⁻¹)	372	363	ns
Ingestión de cebada (g·MS d ⁻¹)	419	484	t
Ingestión de corrector (g·MS d ⁻¹)	33,3	37,0	ns
Ingestión de proteína bruta (g·d ⁻¹)	226	246	ns
GDP (g·d ⁻¹)	323	318	ns
IC (g MS/GDP)	2,61	2,81	ns
Peso canal fría (kg)	11,44	11,73	ns
Rendimiento comercial (%)	45,8	46,6	ns
Pérdidas por oreo (%)	3,09	3,00	ns
Conformación canal (1-15)	6,83	6,92	ns
Estado engrasamiento (1-12)	7,42	7,00	ns
Anchura grupa (cm)	19,4	19,6	ns
Longitud externa canal (cm)	51,8	52,7	ns
Despiece comercial			
1ª Categoría (%)	59,2	59,6	ns
2ª Categoría (%)	19,6	19,3	ns
3ª Categoría (%)	21,2	21,1	ns
Diseción espalda			
Músculo (%)	63,3	62,8	ns
Grasa subcutánea (%)	8,48	8,80	ns
Grasa intermuscular (%)	6,05	6,77	ns
Hueso (%)	19,0	18,7	ns
Otros (%)	3,10	3,00	ns

ns:p<0,10, t:p<0,10.

En concordancia con lo observado por otros autores (Rodríguez *et al.*, 2007, Askar *et al.*, 2006), en el presente estudio los corderos consumieron también una elevada cantidad de proteína. Diferentes autores han planteado que el elevado consumo de proteína que realizan los corderos cuando se crían en sistemas de libre elección de alimentos podría estar relacionado con un papel tampón, es decir como mecanismo complementario de regulación del pH ruminal (Phy y Provenza, 1998). Otros autores, sin embargo, han descartado esta

hipótesis. En este sentido, Askar (2004) no observó un cambio en el patrón de selección de la dieta realizado por corderos en respuesta a la inclusión de bicarbonato sódico en el suplemento proteico. Los resultados obtenidos en el presente estudio corroboran estos resultados, ya que el mayor aporte de proteína degradable que recibió el grupo CU no redujo el consumo de torta de soja.

Como cabría esperar dada la ausencia de diferencias significativas en la ingestión y en la selección de dieta, ni la ganancia diaria de peso ni el índice de conversión variaron significativamente ($P > 0,05$) entre tratamientos. Los valores obtenidos, por otra parte, son similares a los que han observado otros autores con corderos de similares características y cebados tanto en sistemas de libre elección (Askar *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2007) como en sistemas convencionales (Manso *et al.*, 1998; Bodas *et al.*, 2006).

De forma similar, tampoco se hallaron diferencias en las características de la canal medidas. Los resultados relativos al peso de la canal, rendimiento, parámetros morfológicos y despiece se encuentran en concordancia con los señalados en la bibliografía (Cañeque *et al.*, 2001, Díaz *et al.*, 2002).

Es interesante resaltar, no obstante, que cuando se analiza el comportamiento individual a lo largo del periodo de cebo, se observa una elevada variación entre animales y también entre días. A pesar de ello, tal y como se discutió anteriormente, el rendimiento productivo y las características de la canal fueron muy similares a las señaladas para corderos criados en sistemas convencionales, lo que concuerda con los señalado por otros autores respecto a la capacidad de los rumiantes, en la etapa de crecimiento, para amortiguar fluctuaciones en el aporte diario de proteína (Cole, 1999).

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que la suplementación de cebada con urea, cuando se administra a corderos en un sistema que les permite elegir entre su consumo o el de torta de soja, no afecta al consumo de torta de soja que realizan los animales, al rendimiento productivo ni a las características de la canal.

BIBLIOGRAFÍA

- Askar, A.R. 2004. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. Zaragoza, España.
- Askar, A.R., Guada, J.A., González, J.M., de Vega, A., Castrillo, C. 2006. *Livestock Science*, 101: 81-93.
- Bodas, R., Giráldez, F.J., López, S., Rodríguez A.B., Mantecón, A.R. 2006. *Small Ruminant Research* (disponible on-line).
- Cañeque, V., Velasco, S., Díaz, M., Pérez, C., Huidobro, F., Lauzurica, S., Manzanares, C., González, J. 2001. *Animal Science*, 73: 85-95.
- Cole, N.A. 1999. *Journal Animal Science*, 77: 215-222.
- Colomer-Rocher, F., Delfa, R., Sierra, I. 1988. *Cuadernos INIA*, 17: 19-41.
- Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Huidobro, F.R., Pérez, C., González, J., Manzanares, C. 2002. *Small Ruminant Research*, 43: 257-268.
- Fisher, A.V., De Boer, H. 1994. *Livestock Production Science*, 38: 149-159.
- Manso, T., Mantecón, A.R., Giraldez, F.J., Lavín, P., Castro, T. 1998. *Small Ruminant Research*, 29: 185-191.
- Ørskov, E.R., McDonald, I., Fraser, C., Corse, E.L. 1971. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*, 77: 351-361.
- Phy, T.S., Provenza, F.D. 1998. *Journal of Animal Science*, 76: 954-960.
- Reglamento (CEE) nº 1278/94. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L 140: 5-6.
- Rodríguez, A.B., Bodas, R., Fernández, B., López-Campos, O., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J. 2007. *Animal*, (en prensa).
- Vérité, R., Delaby, L. 2000. *Annales Zootechnique*, 49: 217-230.
- SAS INST. INC. 1999. SAS/STAT®. *User's Guide (Version 8)*. SAS Publishing, Cary, NC (Estados Unidos).

UTILIZACIÓN DE MALATO EN RACIONES A BASE DE TRIGO O UNA MEZCLA DE MANDIOCA Y CEBADA EN EL CEBO INTENSIVO DE CORDEROS (1): RENDIMIENTO PRODUCTIVO

Mungói, M., Casals, R., Flores, C., Caja, G.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Grup de Recerca en Remugants
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.
E-mail: ramon.casals@uab.es

INTRODUCCIÓN

El uso de los ácidos orgánicos como aditivos en raciones con elevada proporción de almidones ha mostrado tener efectos positivos en el crecimiento e índice de conversión de rumiantes en cebo, tanto en terneros (Martin, 1998) como en corderos (Caja *et al.*, 2000; Garín *et al.*, 2001; Flores, 2004), pudiendo ser una alternativa a la adición de antibióticos promotores del crecimiento. Sin embargo, las respuestas han sido inconsistentes en cuanto a los indicadores productivos, lo que parece depender del tipo de cereal incluido en la ración (Carro y Ranilla, 2003).

Como es sabido, los cereales son en la actualidad las fuentes de almidón más comúnmente utilizadas en la alimentación animal, representando una porción significativa de los costes de producción. Como complemento o alternativa a los mismos, la harina de mandioca tiene también un alto contenido de almidón, que la convierte en una buena fuente de energía, con gran potencial de uso en la fabricación de alimentos balanceados.

Los objetivos de este trabajo fueron estudiar el efecto de la adición de malato sobre los rendimientos productivos de corderos en cebo intensivo alimentados con concentrados a base de trigo o de una mezcla de mandioca y cebada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 73 corderos de raza Ripollesa (14,0 kg PV) previamente destetados y adaptados al consumo de pienso durante la fase de cría (7 semanas) en la granja experimental del SIGCE de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona, en Bellaterra. Los corderos fueron alimentados con pienso granulado, paja de cebada y agua *ad libitum*. El diseño experimental fue un factorial 2 × 2 en que los factores fueron la adición o no de malato (Rumalato®, Norel-Nature, 0 o 0,2 % del concentrado) y la fuente del almidón (trigo o mandioca-cebada). La composición de los piensos experimentales se presenta en la **Tabla 1**.

Los corderos se distribuyeron al azar en 8 lotes (2 por tratamiento), equilibrados según PV al destete, edad, sexo y ganancia media de peso durante la fase de cría. La ingestión de pienso se valoró semanalmente para cada lote, pesando tanto el pienso suministrado, como el sobrante. En base a ello se calculó la ingestión diaria por cordero y semana. El PV fue controlado semanalmente. La ganancia diaria de peso, fue estimada mediante regresión lineal. Al alcanzar los 23 kg de PV los corderos fueron sacrificados, después de un periodo de ayuno previo (2-8 horas), momento en que se pesó la canal en caliente, se midió el pH del líquido ruminal y se observó el color de la mucosa ruminal.

Cada 2 semanas se recogieron muestras de los piensos, se molieron a través de un tamiz de 1 mm, y se analizaron de MS, cenizas, y PB según AOAC (1995). Para el análisis de FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991) se usó un equipo ANKOM²⁰⁰ (Ankom Technology, Fainport, NY, EEUU). La EB se determinó mediante bomba calorimétrica (IKA Calorimeter C-4000, Janke & Hunkel, Analicnetectenik, Heitersheim, Germany).

El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando los procedimientos GLM y PROC MIXED de SAS (v.8,2, SAS Institute, Cary, Inc.).

Tabla 1. Ingredientes y composición química de los concentrados experimentales

Ingredientes (%)	Tratamiento ¹			
	T	T+M	MC	MC+M
Cebada	6,00	6,00	36,47	36,47
Trigo	64,46	64,46	—	—
Mandioca	—	—	32,00	32,00
Gluten Feed	8,00	8,00	4,00	4,00
Soja 44	11,34	11,34	20,94	20,94
Cascarilla de soja	4,00	4,00	—	—
Urea	0,60	0,60	0,60	0,60
Melaza de caña	2,25	2,25	2,00	2,00
Lípidos	0,58	0,58	1,32	1,32
Minerales y vitaminas ¹	2,77	2,77	2,67	2,67
Rumalato ^{®2}	—	0,20	—	0,20
Composición (% MS)				
MS (% de la materia fresca)	89,12	89,15	89,9	89,51
MO	93,32	93,35	91,83	91,37
PB	18,71	18,53	17,21	16,91
FND	13,67	14,17	13,49	15,59
FAD	5,49	5,56	5,69	5,71
EE	2,82	2,62	3,14	3,16
Almidón	42,51	42,51	41,82	41,82
EB (Mcal/kg MS)	4,04	3,87	3,86	4,03
Ácido málico	0,029	0,047	0,020	0,036

¹T = trigo, T+M = trigo con malato, MC = mandioca y cebada, MC+M = mandioca y cebada con malato.

²Rumalato, 16 % malato sódico y 84 % malato cálcico (Norel & Nature Nutrition S.A., Lliçà de Vall, Barcelona).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición de malato aumentó ($P < 0,04$) la ingestión del pienso (8 %), y la ganancia media diaria (6%), pero no mejoró el índice de conversión (**Tabla 2**). Estos resultados indicarían que la mayor ganancia diaria fue consecuencia de un mayor consumo de concentrado, más evidente en el caso del trigo con malato (+13%) que en el de mandioca-cebada con malato (+3%). De forma similar, la edad al sacrificio ajustado a 23 kg se redujo 4 días en los animales que consumieron trigo con malato, mientras que dicho parámetro aumentó 1 día en los de mandioca-cebada. A causa de estas respuestas claramente diferentes entre los animales que recibieron trigo y los que recibieron la mezcla mandioca-cebada, se observaron interacciones significativas entre el malato y la fuente de almidón en los parámetros indicados ($P < 0,05$). Por otro lado, los corderos que consumieron piensos a base de trigo presentaron una mayor ingestión del pienso (7%) al compararlos con los que recibieron concentrados con mandioca-cebada ($P < 0,05$), lo que pone de manifiesto que las respuestas en ingestión están condicionadas, al menos en parte, por la fuente de almidón usada en la elaboración del pienso. Además, hay que mencionar la posible influencia en los resultados obtenidos del nivel de proteína de los concentrados experimentales. En contra de lo esperado, y a pesar de que se cubrían los mínimos recomendados por el NRC (1985), los concentrados con mandioca-cebada tenían un menor porcentaje de PB que los formulados en base a trigo (**Tabla 1**), lo que podría explicar en parte los peores resultados de crecimiento obtenidos con dicho tratamiento, aunque el índice de conversión no varió, e incluso tendió ($P < 0,12$) a reducirse con mandioca-cebada.

La adición de malato no afectó ($P > 0,10$) la edad al sacrificio, el peso y rendimiento en canal caliente, el pH ruminal, y no modificó tampoco el color de la mucosa ruminal. Los corderos que recibieron piensos a base de trigo mostraron colores de la mucosa ruminal más claros los que recibieron mandioca-cebada ($P < 0,0001$). Este resultado parece indicar

que el color de la mucosa ruminal es más dependiente del tipo de almidón consumido que de otros factores.

Los resultados obtenidos en los índices de conversión concuerdan con estudios previos de Cuesta *et al.* (2003); Carro *et al.* (2006) que no observaron diferencias en el IC de corderos. Sin embargo, Flores (2004), en corderos recibiendo malato al 0,2% observó una reducción del IC, con mejoras más evidentes en piensos con cebada que en piensos con maíz. Las respuestas inconsistentes pueden estar relacionadas con las condiciones experimentales empleadas en los estudios, como son, entre otros, el tipo de ración base, la dosis de malato o su forma de administración.

Tabla 2. Efectos del malato (**M**) y del tipo de almidón (**A**) en el pienso sobre los rendimientos productivos, pH y color de la mucosa ruminal de corderos en cebo

Item	Tratamiento ¹					Efecto (P<)		
	T	T+M	MC	MC+M	±EEM	M	A	M × A
Aumento diario de peso, kg/d	0,236	0,270	0,253	0,249	0,0078	0,05	0,78	0,02
Pienso, kg MS/d	0,708	0,816	0,712	0,732	0,0272	0,003	0,05	0,03
IC, kg MS/kg PV	3,07	3,07	2,87	2,99	0,089	0,48	0,12	0,49
Edad a 23 kg PV, d	39	35	36	38	1,4	0,62	0,78	0,04
Peso canal caliente, kg	11,98	11,79	12,05	12,08	0,285	0,78	0,52	0,68
Rendimiento canal, %	49,58	49,80	49,43	49,87	0,517	0,51	0,94	0,83
pH Ruminal al sacrificio	6,13	6,55	6,60	6,38	0,280	0,70	0,56	0,23
Color de la mucosa ruminal ²	1,60	1,80	2,70	2,55	0,185	0,96	0,0001	0,34

¹ T = trigo, T+M = trigo con malato, MC = mandioca y cebada, MC+M = mandioca y cebada con malato.

² 1= marrón, 2= gris, 3= oscuro

En conclusión, la adición de malato al 0,2% en el concentrado aumentó la ganancia media diaria y la ingestión de concentrado, especialmente en los corderos que recibieron trigo, pero no mejoró el índice de conversión. Los corderos alimentados con mandioca-cebada presentaron similares aumentos de peso e índices de conversión que los alimentados con trigo, pero respondieron peor a la suplementación con malato.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical. 1995. (16th ed.). AOAC, Arlington, VA.
 Caja, G., Garín, D., Mesia, J. 2000. *Feed Int.*, 25: 23–25.
 Carro, M. D., Ranilla, M. J. 2003. *Br. J. Nutr.* 89:279–288.
 Carro, M. D., Ranilla, M. J., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:405–410.
 Cuesta, A., Ranilla, M. J., Giraldes, F.J., Mantecón, A.R., Carro, M.D. 2003. *ITEA. Prod. Animal.* 24 (vol. extra): tomo II, 762–764.
 Flores, C. 2004. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, Spain.
 Garín, D., Caja, G., Mesia, J. 2001. *Options Méditerranéennes, Cahiers*, 54:181-184
 Martin, S. A. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 3123–3132.
 NRC, 1985. *Nat. Acad. Press.* Washington, DC
 SAS. 2000. *User's Guide.* (version 8.1). SAS inst. Inc. Cary. NC, USA.
 Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.

EFFECTO DE DOSIS CRECIENTES DE MALATO SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y FERMENTACIÓN EN CORDEROS ALIMENTADOS CON DIETA ALTA EN CONCENTRADO

Mungói, M., Casals, R., Flores, C., Caja, G.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Grup de Recerca en Remugants
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

E-mail: ramon.casals@uab.es

INTRODUCCIÓN

La utilización de los ácidos orgánicos como aditivo en el pienso en rumiantes tiene como objetivo influir en la productividad de animales sanos o en el medio ambiente (CE1831/2003). Estudios *in vitro* (Carro y Ranilla, 2003; Gómez *et al.*, 2005) han demostrado que la adición de malato estimula la fermentación ruminal aumentando la concentración total de ácidos grasos volátiles (AGV). El uso de los ácidos orgánicos como aditivos en el pienso ha mostrado tener efectos positivos en el crecimiento e índice de conversión de rumiantes en cebo, tanto en terneros (Streeter *et al.*, 1994; Martin, 1998) como en corderos (Caja *et al.*, 2000; Garín *et al.*, 2001; Flores, 2004). Sin embargo, Mungói *et al.* (2007) en un estudio sobre el efecto del malato en el rendimiento productivo en corderos de cebo intensivo, sólo observaron mejoras en el crecimiento diario, y la falta de respuesta al malato en otros parámetros productivos podría deberse a una dosis insuficiente.

El objetivo de este trabajo fue estudiar, en corderos en crecimiento, el efecto de diferentes niveles de inclusión de malato en el pienso sobre el consumo de alimento, la ganancia diaria de peso, el índice de conversión, el pH ruminal y el perfil de fermentación ruminal, para lo cual se realizaron dos trabajos experimentales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento 1: Se utilizaron un total de 78 corderos (14,5 kg PV) de raza Manchega (n = 34) y Lacaune (n = 44) previamente destetados (6 semanas) y adaptados al consumo de pienso, en la granja experimental del SIGCE de la Facultat de Veterinària de la Universitat Autònoma de Barcelona, en Bellaterra. Los corderos se distribuyeron al azar en 8 lotes, equilibrados en función del peso vivo y sexo, asignándose dos lotes a cada uno de los tratamientos experimentales, en función del nivel de malato (Rumalato®, Norel & Nature, 85% de E 296 DL-ácido málico) en el concentrado: 0% (grupo control, **M-0**), 0,3% (**M-03**), 0,6% (**M-06**), y 0,9% (**M-09**). Los animales recibieron a voluntad, agua, paja de cebada y los concentrados experimentales. El concentrado control contenía: maíz (30%), trigo (10%), cebada (30,9%), gluten feed (4%), soja-44 (19%), pulpa de garrofa (2,0%), melaza caña (1,5%), carbonato cálcico (1,8%), corrector vitamínico mineral (0,4%), PB (18,4), FND (14,1), y ácido málico (0,15%). La fórmula de los concentrados con malato fue igual, excepto el nivel de cebada que se redujo ligeramente en función del malato incluido.

La ingestión de pienso y paja se controló semanalmente para cada lote, En base a ello se calculó la ingestión diaria por cordero y semana. Cada 2 semanas se recogieron muestras de alimentos, se molieron a través de un tamiz de 1 mm, y se analizaron MS, cenizas, y PB según AOAC (1995). Para analizar FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991), en análisis secuencial, se usó un equipo ANKOM²⁰⁰ (Ankom Technology, Fainport, NY, EEUU). El PV de los corderos se controló semanalmente y la ganancia diaria de peso fue estimada mediante regresión lineal. Cuando los corderos superaron los 23 kg de PV fueron sacrificados y se pesó la canal en caliente.

Experimento 2: Se utilizaron un total de 30 corderas (24 kg PV) de razas Manchega (n = 12) y Lacaune (n = 18) que se distribuyeron en 4 lotes equilibrados según raza y PV. Los

animales se mantuvieron bajo las mismas condiciones y recibieron los mismos tratamientos (**M-0**, **M-03**, **M-06** y **M-09**) que en la experiencia 1. Igualmente, los registros de PV y consumo, y la toma de muestras para el análisis de alimentos se realizaron como en la experiencia anterior.

Cuando las corderas alcanzaron los 33-35 kg de PV (en grupos semanales) se recogieron muestras de líquido ruminal (entre las 11,00 y las 13,00 h). El pH ruminal se midió inmediatamente y se tomaron 2 muestras. La primera muestra (4 mL) se conservó en un frasco conteniendo 1 mL de solución desproteinizante (0,2% de cloruro de mercurio, 2% de ácido ortofosfórico y 0,2% de 4-metil valérico como marcador interno) para determinar AGV por cromatografía de gases (Jouany, 1982). La segunda muestra de 4 mL se conservó en otro frasco con 4 mL de solución conservante (HCl concentración 0,2 N), y se analizó el N amoniacal mediante espectrofotometría (Chaney y Marbarch, 1962). Los posibles efectos lineales (L), cuadráticos (Q) y cúbicos (C) fueron analizados utilizando el PROC MIXED del SAS (versión 9,1, SAS Institute, Inc., Cary, NC), en ambos experimentos.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Experimento 1: La adición de malato disminuyó linealmente ($P < 0,03$) la ingestión total de MS (**Tabla 1**), como resultado de la disminución de la ingestión de pienso ($P < 0,04$) e incremento del consumo de paja ($P < 0,02$). El aumento diario de peso (ADP) no fue afectado por los tratamientos. En consecuencia, el índice de conversión (IC) fue más bajo ($P < 0,02$) al aumentar la dosis de malato. Otros autores observaron mejoras en el IC de corderos (Flores, 2004) y terneros (Martin, 1988) al adicionar malato. Sin embargo Carro *et al.* (2006) no observaron diferencias en el IC de corderos. El malato no afectó la edad al sacrificio y el peso en canal caliente.

Tabla 1. Efectos de dosis crecientes de malato en el pienso sobre la ingestión, aumento diario de peso (ADP), índice de conversión (IC), edad a 23 kg de PV y peso de la canal caliente (PCC) de corderos de cebo.

Item	Tratamiento ¹				±EEM	Efecto ² (P<)		
	M-0	M-03	M-06	M-09		L	Q	C
Ingestión, kg MS/d								
Pienso	0,691	0,657	0,651	0,614	0,0369	0,04	0,80	0,68
Paja	0,046	0,059	0,066	0,067	0,0056	0,02	0,12	0,85
Total	0,737	0,715	0,717	0,681	0,0201	0,03	0,43	0,76
ADP, kg/d	0,292	0,309	0,301	0,302	0,0155	0,66	0,51	0,49
IC, kg MS/kg PV	2,71	2,48	2,51	2,3	0,163	0,02	0,95	0,33
Edad a 23 kg PV	31	30	30	30	2,0	0,63	0,16	0,93
PCC, kg	11,73	11,46	11,44	11,34	0,334	0,21	0,70	0,77

¹ Nivel de malato (Rumalato®, Norel & Nature, 85% de E 296 DL-ácido málico) en el concentrado: 0% (Control, **M-0**), 0,3% (**M-03**), 0,6% (**M-06**), y 0,9% (**M-09**).

² L: lineal, Q: cuadrático, C: cúbico.

Experimento 2: En este caso la ingestión de concentrado y el IC (total y del concentrado), se redujeron de forma cúbica ($P < 0,05$), debido al consumo de pienso que se registró en la dosis intermedia de malato (**Tabla 2**). En este grupo se observó el pH más bajo (5,41), probablemente como consecuencia del incremento de la concentración de los AGV totales. La inclusión de malato incrementó ($P < 0,02$) de forma lineal y cuadrática la concentración de AGV totales. Sin embargo la proporción molar de propionato no fue afectada por los tratamientos, pero disminuyó la de acetato (lineal, $P < 0,02$) y aumentó linealmente ($P < 0,01$) la de butirato. No hubo diferencias entre tratamientos en la concentración de NH₃-N, AGV ramificados, ni en la relación acetato:propionato. El aumento

de la concentración de AGV totales y la reducción de la proporción molar de acetato podrían explicar la mejora observada en el índice de conversión.

Tabla 2. Efectos de dosis crecientes de malato en el pienso sobre la ingestión, aumento diario de peso (ADP), índice de conversión (IC), pH ruminal, concentración de N amoniacal (NH₃-N), concentración y perfil de ácidos grasos volátiles (AGV) de corderos en crecimiento.

Item	Tratamiento ¹				±EEM	Efecto ² (P<)		
	M-0	M-03	M-06	M-09		L	Q	C
Ingestión, Kg MS/d								
Pienso	1,129	1,027	1,109	0,917	0,0472	0,26	0,74	0,05
Paja	0,051	0,079	0,044	0,082	0,0067	0,61	0,9	0,10
Total	1,18	1,106	1,153	0,999	0,0487	0,25	0,73	0,08
ADP, kg/d	0,287	0,285	0,269	0,291	0,0197	0,69	0,49	0,41
IC total	4,17	3,96	4,4	3,51	0,273	0,14	0,07	0,05
IC de pienso	3,99	3,68	4,23	3,22	0,262	0,06	0,21	0,001
pH	5,65	5,9	5,41	6,06	0,195	0,34	0,11	0,01
NH ₃ -N, mg/100ml	5,33	3,89	4,6	4,97	1,328	0,97	0,35	0,52
AGV, mM	136,27	147,75	178,25	148,94	11,954	0,02	0,01	0,14
AGV, mol/100 mol								
Acetato	47,19	44,84	44,93	41,65	2,236	0,02	0,63	0,40
Propionato	44,14	42,73	42,43	42,14	3,156	0,52	0,74	0,91
Butirato	3,99	10,69	12,06	13,95	3,09	0,01	0,29	0,66
Valerato	2,46	1,75	1,54	2,21	0,476	0,81	0,04	0,83
AGV ramificados, mM	0,79	0,95	0,93	0,81	0,191	0,96	0,29	0,92
Acetato:Propionato	1,1	1,1	1,1	1,0	0,05	0,28	0,57	0,58

¹ Nivel de malato (Rumalato®, Norel & Nature, 85% de E 296 DL-ácido málico) en el concentrado: 0% (Control, **M-0**), 0,3% (**M-03**), 0,6% (**M-06**), y 0,9% (**M-09**).

² L: lineal, Q: cuadrático, C: cúbico.

En conclusión, los resultados indican que la adición de malato a piensos de cebo intensivo en corderos mejora la productividad, a causa de reducciones en el consumo de concentrado y del índice de conversión, que pueden estar relacionadas con el aumento de la concentración de AGV totales y la reducción de la proporción molar de acetato.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Association of Official Analytical. 1995. (16th ed.). AOAC, Arlington, VA.
- Caja, G., Garín, D., Mesia, J. 2000. *Feed Int.*, 25:23-25.
- Carro, M. D., Ranilla, M.J. 2003. *Br. J. Nutr.* 89:279-288.
- Carro, M. D., Ranilla, M.J., Giráldez, F.J., Mantecón A.R. 2006. *J. Anim. Sci.* 84:405-410.
- Chaney, A. L., E. P. Marbach., 1962. *Clin. Chem.* 8:130-132.
- Flores, C. 2004. Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona, 106 pp.
- Garín, D., Caja, G., Mesia, J. 2001. *Options Méditerranéennes, cahiers*, 54:181-184.
- Gómez, J. A., Tejido M. L. Carro M. D. 2005. *Br.J. Nutr.* 93:479-484.
- Jouany, J. P. 1982. *Sci. Aliment.* 2:131-144.
- Martin, S. A. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 3123-3132.
- Mungói, M., Casals, R., Flores, C., Caja G. 2007. *ITEA Prod. Animal (vol. extra)*, en prensa.
- SAS/STAT versión 9.1, User's Guide, SAS Institute Inc. 2004. Cary, NC, USA.
- Streeter, M. N., Nisbet, D. J., Martin, S. A., Williams, S. E. 1994. *J. Anim. Sci.* 72 (Suppl. 1):384 (Abstr.).
- Unión Europea. 2003. Regulación (EC) No 1831/2003, 22 Septiembre.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.

INCLUSIÓN DE PULPA DE REMOLACHA Y BICARBONATO SÓDICO EN LA RACIÓN DE CORDEROS EN LA FASE DE CEBO

Bodas, R.¹, Rodríguez, A.B.², Lavín, P.², Giráldez, F.J.², Mantecón, A.R.², López, S.³

¹ ETSI Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia. Email: raul.bodas@agro.uva.es

² Estación Agrícola Experimental (CSIC). 24346 Grulleros. León.

³ Dpto. Producción Animal. Universidad de León. 24071 León.

INTRODUCCIÓN

Diferentes autores han puesto de manifiesto que el empleo de bicarbonato sódico en el pienso de corderos criados en condiciones de cebo intensivo permite mejorar el rendimiento productivo, gracias a sus efectos a nivel ruminal y sistémico (Phy y Provenza, 1998). En este sentido, estudios recientes han situado el nivel óptimo de inclusión en torno al 2% del pienso concentrado (Bodas *et al.*, 2003), si bien su efecto depende del tipo de ración que consumen los animales, siendo menos efectivo cuanto mayor es el porcentaje de forraje en la ración (Tripathi *et al.*, 2004).

La composición del pienso también puede modificar el efecto del bicarbonato, ya que pueden incluir cereales con diferente velocidad de degradación del almidón u otros alimentos menos acidogénicos que éstos. En este sentido, la sustitución parcial de cereales por pulpa de remolacha en el pienso empleado para el cebo intensivo de corderos, puede tener un efecto favorable sobre las condiciones del rumen. Así, se observó un descenso en la producción de lactato y propionato cuando se utilizó pulpa de remolacha, en comparación con dietas más ricas en almidón (Hall *et al.*, 1998). La inclusión de pulpa de remolacha en los piensos de corderos, en sustitución de cereales, también podría ejercer un efecto negativo sobre la ingestión y rendimiento productivo, ya que la pulpa tiene un mayor contenido de fibra y una elevada capacidad higroscópica. Obviamente, este efecto posiblemente depende del nivel de inclusión.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de bicarbonato sódico (2%) y pulpa de remolacha (12%), individual o conjuntamente, en el pienso compuesto sobre la ingestión, la digestibilidad, el ritmo de crecimiento y el rendimiento productivo de corderos de cebo intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para conseguir los objetivos propuestos se emplearon 36 corderos de raza Merina (peso inicial: 15,4±0,13 kg). Los corderos fueron distribuidos en 4 grupos de 9 animales cada uno, de acuerdo con un diseño factorial 2 × 2, correspondiente a dos niveles de inclusión de pulpa de remolacha (0 vs. 12%) y dos niveles de adición de bicarbonato sódico (0 vs. 2%). La composición de los piensos experimentales se recoge en la Tabla 1.

Los corderos recibieron pienso concentrado, paja de cebada (916 g materia seca/kg, 802 g fibra neutro detergente/kg, 23 g proteína bruta/kg y 50 g cenizas/kg) y agua fresca a voluntad. El alimento fue suministrado a primera hora de la mañana, una vez recogidos los restos del día anterior, calculando la oferta para permitir un 20% de restos del alimento ofrecido. Tanto la oferta de alimento como los restos fueron analizados semanalmente para determinar su contenido en materia seca.

Durante los días 22 a 28 del periodo experimental se realizó una prueba de digestibilidad, empleando 5 corderos por grupo, que fueron alojados en jaulas metabólicas. Tras dos días de adaptación a las jaulas, se recogieron las heces durante cinco días seguidos, pesándose y tomándose una alícuota del 10% para su análisis químico.

Los animales se pesaron dos veces por semana durante todo el periodo experimental, hasta que alcanzaron 24 kg de peso, y después cada dos días hasta alcanzar el peso al sacrificio (25 kg). Cuando los animales alcanzaron los 25 kg de peso vivo fueron sacrificados, registrándose el peso de la canal tras 24 horas de oreo a 4°C.

Tabla 1. Composición de los piensos experimentales (g/kg).
(PR = Pulpa de remolacha; B = Bicarbonato sódico)

	0 % PR		12% PR	
	0% B	2% B	0% B	2% B
Cebada	500	491	380	372
Maíz	230	225	230	225
Torta de soja 44	190	186	190	186
Pulpa de remolacha	0	0	120	118
Corrector	30	29	30	29
Melaza de caña	50	49	50	49
Bicarbonato sódico	0	20	0	20
Materia seca	867	871	867	868
Proteína bruta	152	150	155	149
Fibra neutro detergente	113	112	130	128
Cenizas	62	66	68	70

Los análisis para determinar el contenido de materia seca, proteína bruta y cenizas se realizaron de acuerdo con la AOAC (2003). El contenido en FND fue determinado por el método de Van Soest *et al.* (1991).

La ganancia diaria de peso se estimó por regresión lineal. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los valores de ingestión, digestibilidad, ganancia de peso, índice de conversión, peso de la canal y rendimiento comercial. El efecto de la interacción entre las fuentes de variación estudiadas no fue significativo ($P>0,10$) para ninguno de los parámetros analizados.

La inclusión de bicarbonato de sodio en el pienso no influyó significativamente ($P>0,05$) ni en la ingestión total de materia seca ni de pienso. Sin embargo, sí que se observó un incremento (alrededor del 24% de media) en la digestibilidad de la fibra neutro detergente ($P<0,05$), independientemente de la inclusión de pulpa de remolacha, como consecuencia de la inclusión de bicarbonato en el pienso. La diferencias observadas en la digestibilidad de la materia seca mostraron una tendencia a la significación ($P>0,10$), correspondiendo también los mayores valores a los corderos que consumieron los piensos que contenían bicarbonato sódico.

La inclusión de bicarbonato sódico en la ración puede dar lugar a unas mejores condiciones ruminales, de tal forma que se vea favorecida la digestibilidad de la parte fibrosa de la ración. Tales condiciones pueden venir determinadas por cambios en la capacidad tampón del líquido ruminal, el pH o la presión osmótica (Wedekind *et al.*, 1986).

Al contrario de lo sucedido con la adición de bicarbonato, la inclusión de pulpa de remolacha en el pienso, en sustitución de cebada, causó una disminución significativa ($P<0,05$) en el consumo total de materia seca y de pienso. Similares resultados han sido observados por Rouzbehan *et al.* (1994). Este efecto podría estar relacionado con el mayor contenido de fibra neutro detergente de los piensos que incluyen pulpa de remolacha, el cual se traduciría en una disminución del ritmo de fermentación y de paso de la digesta.

La inclusión de pulpa no afectó a la digestibilidad de la materia seca ($P<0,05$). En el caso de la FND, sin embargo, las diferencias en la digestibilidad mostraron una tendencia a la significación ($P<0,10$), siendo mayor el valor de este parámetro en los corderos que consumieron los piensos con pulpa.

El efecto positivo observado sobre la digestibilidad de la fibra neutro detergente posiblemente sea consecuencia de que la FND de la pulpa de remolacha sea más digestible que la de la cebada. En este sentido, Fernández (2006) observó en ganado ovino valores de digestibilidad para esta fracción en torno al 85%. La ausencia de efecto sobre la

digestibilidad de la materia seca posiblemente sea debido a que el incremento en aquella se vea compensado por una reducción en el contenido de otros nutrientes muy digestibles (p.e. almidón).

Tabla 2. Valores medios de ingestión, digestibilidad y rendimientos para cada tratamiento experimental (PR = Pulpa de remolacha; B = Bicarbonato sódico).

	0 % PR		12% PR		RSD	Significación		
	0% B	2% B	0% B	2% B		B	PR	B×PR
Ingestión (g MS·animal ⁻¹ ·día ⁻¹)								
Pienso	824	839	747	788	73,2	NS	*	NS
Paja	13	19	18	20	7,1	NS	NS	NS
Total	838	859	735	808	75,4	NS	*	NS
Digestibilidad (%)								
Materia seca	83,8	85,7	83,7	86,2	3,30	T	NS	NS
Fibra neutro detergente	46,7	58,2	54,3	66,7	10,56	**	T	NS
Ganancia diaria de peso (g·animal ⁻¹ ·día ⁻¹)								
	302	338	246	271	39,0	*	***	NS
Índice de conversión de la materia seca								
	2,81	2,55	3,16	3,01	0,329	T	**	NS
Peso de la canal fría (kg)								
	11,7	12,0	11,7	11,8	0,51	NS	NS	NS
Rendimiento comercial (%)								
	46,8	47,2	47,2	47,0	1,65	NS	NS	NS

Significación: NS = P > 0,1; T = P < 0,1; * = P < 0,05; ** = P < 0,01; *** = P < 0,001.

El incremento en la digestibilidad en respuesta a la adición de bicarbonato sódico al pienso se reflejó en una mayor ganancia diaria de peso (P<0,05) y una tendencia a disminuir el índice de conversión de la materia seca (P<0,10), corroborando lo sugerido por Bodas *et al.* (2003). Por el contrario, la incorporación de pulpa de remolacha al pienso produjo una disminución en la ganancia de peso y un aumento en el índice de conversión (P<0,05), consecuencia de una menor ingestión de alimento, lo que concuerda con lo observado por Rouzbehan *et al.* (1994).

Ninguna de las fuentes de variación estudiadas influyó significativamente (P>0,05) ni en el peso de la canal fría ni en el rendimiento comercial.

Los resultados observados permiten concluir que la inclusión de un 2% de bicarbonato sódico en el pienso para corderos en la etapa de cebo les permite expresar en mayor medida su potencial de crecimiento. Por otra parte, la sustitución de parte de la cebada por un 12% de pulpa de remolacha, aunque causó disminuciones en la ingestión y en el índice de conversión, no influyó en el peso de la canal fría ni en el rendimiento comercial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2003. AOAC International, Gaithersburg, MD (USA).
- Bodas, R., Mantecón, A.R., Frutos, P., López, S., Giráldez, F.J., 2003. *ITEA* vol Extra nº 24, 768-770.
- Fernández, B. 2006. Tesis Doctoral. Universidad de León (España).
- Hall, M.B., Pell, A.N., Chase, L.E., 1998. *Anim. Feed Sci. Technol.* 70, 23–39.
- Phy, T.S., Provenza, F.D. 1998. *J. Anim. Sci.* 76, 954-960.
- Rouzbehan, Y., Galbraith, H., Rooke, J.A., Perrott, J.G., 1994. *Anim. Prod.* 59, 147-150.
- SAS, 1999. SAS Publishing, Cary, NC (USA).
- Tripathi, M.K., Santra, A., Chaturvedi, O.H., Karim, S.A., 2004. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111, 27-39.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.
- Wedekind, K.J., Muntifering, R.B., Barker, K.B., 1986. *J. Anim. Sci.* 62, 1388-1395.

EFFECTO DEL NIVEL DE INGESTIÓN DURANTE LA LACTANCIA Y LA PRIMERA FASE DE LA RECRÍA SOBRE EL DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN CORDERAS DE RAZA ASSAF

Castañares, N.^{1*}, Gonzalo-Orden, J.M.², Mantecón, A.R.¹, López, J.¹, Hervás, G.¹

¹ Estación Agrícola Experimental. CSIC. Finca Marzanas. 24346 Grulleros. León

² Instituto de Biomedicina. Universidad de León. 24071 León

*Correo electrónico: n.castanares@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

Tanto la lactancia como la recría de las corderas son etapas dentro de la vida del animal a las que, por lo general, se les ha concedido poca importancia, pese a que se trata de las futuras productoras de leche y a que, por ejemplo, en ganado vacuno se ha visto que el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria pueden ser determinantes en la capacidad de producción de leche de los animales (Sejrsen *et al.*, 2000; Akers, 2002). En este sentido, se sabe que con elevadas ganancias de peso durante el periodo prepuberal se alcanza antes el peso vivo adecuado para la cubrición y se acorta, por lo tanto, el periodo no productivo de los animales. Sin embargo, en ganado bovino se ha observado que elevados niveles de ingestión de energía durante esta etapa pueden perjudicar el desarrollo del tejido secretor de la glándula mamaria y, por lo tanto, la capacidad de producción de leche (Sejrsen y Purup, 1997; Mäntysaari *et al.*, 2002). En ganado ovino, este efecto negativo parece estar limitado a un periodo crítico de desarrollo durante los primeros meses de edad (McFadden *et al.*, 1990; Tolman y McKusick, 2001), pero existe un enorme desconocimiento sobre la importancia de las primeras semanas de vida. Por otro lado, diversos estudios (Sorensen *et al.*, 1987; Carstens *et al.*, 1997) han puesto de manifiesto la utilidad de la Tomografía Axial Computarizada (TAC) para la cuantificación de la composición del tejido mamario de ganado vacuno, sin la necesidad de diseccionar las glándulas.

Por todo ello, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del nivel de ingestión entre el nacimiento y los 5 meses de edad sobre el ritmo de crecimiento en corderas de raza Assaf española y sus consecuencias sobre el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche en la primera lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de esta prueba se utilizaron 120 corderas de raza Assaf española que se dividieron, durante el periodo de lactancia, en dos tratamientos experimentales de 60 animales cada uno, formados a su vez por 12 lotes de 5 animales. Los tratamientos durante esta fase fueron, en función de la cantidad de sustitutivo lácteo ofertada: Ad Libitum (AL) y Restringido (Rs; 60% de *ad libitum*).

Una vez destetados y hasta los 5 meses de edad, cada tratamiento de la fase de lactancia se dividió en tres nuevos tratamientos experimentales (formados cada uno de ellos por dos lotes de 10 animales cada uno): alto (A), medio (M) y bajo (B), diseñados para conseguir ganancias diarias de peso vivo superiores a 200 g y de aproximadamente 150 y 100 g, respectivamente. Además del pienso, todos los animales dispusieron siempre de paja de cebada a voluntad.

A partir de los 5 meses de edad y hasta el final de la lactación, todos los animales recibieron *ad libitum* la misma ración completa adaptada a las necesidades de las distintas fases productivas.

Tanto el peso vivo de los animales como la ingestión de cada lote se controló semanalmente durante todo el experimento. La producción de leche durante la lactación (en esta fase cada lote estuvo formado por 6 animales) se controló también una vez por semana, una vez destetados los corderos. El estudio de la glándula mamaria mediante TAC (Tomoscan M Philips) se realizó, a dos corderas de cada lote experimental, a los 5 meses y antes del periodo de cubrición (aproximadamente a los 10 meses de edad). El análisis de las imágenes obtenidas se realizó con la versión 4.19 del programa *Osiris imaging software*.

El efecto del nivel de ingestión durante el periodo de lactancia (L) y el primer periodo de la recría (R) se analizó mediante un análisis de varianza, utilizando para ello el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 puede observarse que, como consecuencia del diseño experimental, tanto la ganancia diaria de peso vivo (GDPV) durante la fase de lactancia como el peso vivo (PV) en el momento del destete fueron diferentes ($P < 0,001$) entre tratamientos. Del mismo modo, al alcanzar los 5 meses de edad, se encontraron diferencias significativas ($P < 0,001$) en el PV final en función del tratamiento durante esta fase, consecuencia de las diferentes GDPV en esa etapa, establecidas también en el diseño experimental. Ni en esta, ni en ninguna de las fases posteriores a la lactancia se encontraron diferencias significativas ($P > 0,10$) en el PV final o en la GDPV debidas a la cantidad de sustitutivo lácteo recibida. Sin embargo, sí existieron diferencias significativas en función del tratamiento durante la fase de recría. A partir de los 5 meses de vida y hasta el final de la gestación, la GDPV fue siempre superior ($P < 0,01$) en los animales que habían estado sometidos a algún tipo de restricción en la primera fase de la recría, aunque las diferencias en el PV entre tratamientos no desaparecieron hasta el final de la gestación. En la fase de lactación no se encontraron diferencias ($P > 0,10$) ni en la GDPV ni en el PV de las ovejas en el momento del secado.

Tabla 1.- Efecto del nivel de alimentación durante la lactancia y la recría sobre la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/día), el peso vivo (PV; kg) al final de cada fase y la producción de leche en la primera lactación (kg/día).

	Lactancia		Recría			eed	Nivel de significación		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
GDPV (g/día)									
Lactancia (<1,5 meses)	250	208	---	---	---	10,0	***	---	---
Recría 1,5 - 5 meses	174	178	261 ^a	161 ^b	105 ^c	18,1	ns	***	ns
5 - 8 meses	187	187	162 ^b	200 ^a	199 ^a	19,1	ns	**	ns
8 - 10 meses	189	187	150 ^b	195 ^a	220 ^a	32,5	ns	**	ns
Gestación	202	202	166 ^b	223 ^a	217 ^a	22,3	ns	***	**
Lactación	99	83	94	83	96	31,1	ns	ns	ns
PV (kg)									
Destete (1,5 meses)	17,8	13,7	---	---	---	1,14	***	---	---
5 meses (1 ^a fase recría)	34,1	33,3	42,2 ^a	32,8 ^b	26,1 ^c	2,26	ns	***	ns
8 meses	50,7	49,3	57,2 ^a	49,8 ^b	43,1 ^c	2,99	ns	**	ns
10 meses (cubrición)	65,1	64,1	70,3 ^a	64,4 ^{ab}	58,9 ^b	3,48	ns	**	ns
Fin de gestación	84,6	82,5	86,0	85,2	79,5	0,75	ns	t	ns
Secado	78,7	77,2	77,6	78,8	77,5	3,51	ns	ns	ns
Leche (kg/día)	1,51	1,66	1,74	1,43	1,59	0,237	ns	ns	ns

eed, error estándar de la diferencia; L, efecto de la lactancia; R efecto de la recría.

Niveles de significación, ns = no significativo ($P > 0,10$); t = $P < 0,10$; ** = $P < 0,01$ *** = $P < 0,001$.

Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

Al igual que lo observado en ganado vacuno (Sejrsen *et al.*, 1982; Carstens *et al.*, 1997), estas diferencias en el PV (durante las distintas fases del crecimiento) se reflejaron en el volumen total de la glándula mamaria (Tabla 2), que fue significativamente mayor ($P < 0,001$) en los animales sometidos a elevadas GDPV durante los periodos de lactancia y recría. Respecto al volumen total de parénquima sólo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) a los 10 meses, observando un mayor volumen en los animales del tratamiento A, al igual que lo observado por Johnsson y Hart (1985) en el peso de este tejido y que podría estar relacionado con el mayor peso de los animales. Por otro lado, y en consonancia con lo encontrado por estos autores en ovino y por Carstens *et al.* (1997) en vacuno, el tejido extraparenquimatoso fue en ambas fases inferior en los animales sometidos a un menor ritmo de crecimiento durante la fase de recría. Estos resultados se reflejan también en el porcentaje (referido a la suma del parénquima más el tejido extraparenquimatoso) ocupado

por este tejido en la glándula mamaria a los 5 meses de edad pero no en el momento de la cubrición.

Sin embargo, y pese a que estas diferencias en la composición de la glándula mamaria podrían reflejarse en la capacidad de producción de leche (Mäntysaari, 2002), en la Tabla 1 se observa que no hubo diferencias significativas ($P>0,10$) en la cantidad de leche producida en los distintos tratamientos. Estos resultados son similares a los encontrados por Sormundsen-Cristian y Jauhainen (2000) en corderas de raza Finnish Landrace y por Ayadi et al. (2002) en corderas de raza Lacaune. Sin embargo, otros autores (Zidi et al., 2005) observaron en ovejas de raza Manchega un claro efecto del nivel de alimentación durante el periodo prepuberal sobre la producción de leche. Así, al igual que lo observado en ganado vacuno (Sejrsen y Purup, 1997), el efecto del nivel de ingestión durante el periodo prepuberal sobre el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria y la subsiguiente producción de leche podría variar entre razas, en función de su potencial genético.

Tabla 2.- Efecto del nivel de alimentación durante la lactancia y la recría sobre el volumen de la glándula mamaria y sus diversos tejidos (parénquima, tejido extraparenquimatoso; cm^3) medidos mediante Tomografía Axial Computarizada a los 5 y 10 meses de edad.

	Lactancia		Recría			eed	Nivel de significación		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
5 meses									
Glándula mamaria	159	143	246 ^a	138 ^b	70 ^c	30,8	ns	***	ns
Parénquima	27	31	33	26	27	6,5	ns	ns	ns
T. extraparenquimatoso	136	116	218 ^a	115 ^b	45 ^c	29,1	ns	***	ns
% T. extraparenquimatoso	77,1	74,5	86,3 ^a	81,2 ^a	59,7 ^b	6,53	ns	***	ns
10 meses									
Glándula mamaria	346	283	401 ^a	334 ^b	236 ^c	36,2	*	***	ns
Parénquima	56	58	76 ^a	48 ^b	49 ^b	14,7	ns	*	ns
T. extraparenquimatoso	309	244	340 ^a	293 ^a	196 ^b	32,8	**	***	ns
% T. extraparenquimatoso	83,9	81,4	81,4	85,9	80,6	3,69	ns	ns	*

eed, error estándar de la diferencia; L, efecto de la lactancia; R efecto de la recría.

Niveles de significación, ns = no significativo ($P>0,10$); * = $P<0,05$; ** = $P<0,01$ *** = $P<0,001$.

Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$).

Como conclusión, podría decirse que en corderas de raza Assaf española el nivel de alimentación hasta los 5 meses de edad no afecta a la producción de leche en la primera lactación, a pesar de que esta ingestión sí influye en el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria al menos hasta los 10 meses de edad.

AGRADECIMIENTOS

N. Castañares disfrutó de una beca predoctoral del CSIC (Programa I3P). Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto CSI01B05).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akers, R.M. 2002. Lactation and the mammary gland. *Iowa State Press. Estados Unidos.*
- Ayadi, M.; Caja, G.; Such, S.; Ghirardi, J.J. 2002. *XXVII Jornadas Científicas de la SEOC*, p. 127-135.
- Carstens, G.E.; Glaser, D.E.; Byers, F.M.; Greene, L.; Lunt, D.K. 1997. *J. Anim. Sci.*, **75**, 2378-2388.
- Johnsson, I.D.; Hart, I.C. 1984. *Anim. Prod.*, **41**, 323-332.
- Mäntysaari, P.; Ojala, M.; Mäntysaari, E.A. 2002. *Livest. Prod. Sci.*, **75**, 313-322.
- McFadden, T.B.; Daniel, T.E.; Akers, R.M. 1990. *J. Anim. Sci.*, **68**, 3171-3179.
- Osiris imaging software. *Departement de radiology et informatique medicale. Hôspitaux Universitaires de Genève, Suiza.*
- SAS. 1999. *User's Guide Int. (v 8). SAS Inst. Inc., Cary, NC, Estados Unidos.*
- Sejrsen, K.; Huber, J.T.; Tucker, H.A.; Akers, R.M. 1982. *J. Dairy Sci.*, **65**, 793-800.
- Sejrsen, K.; Purup, S. 1997. *J. Anim. Sci.*, **75**, 828-835.
- Sejrsen, K.; Purup, S.; Vestergaard, M.; Foldager, J. 2000. *Domest. Anim. Endocrinol.*, **19**, 93-104.
- Sorensen, M.T.; Sejrsen, K.; Foldager, J. 1987. *J. Dairy Sci.*, **70**, 265-270.
- Sormundsen-Cristian, R.; Jauhainen, L. 2000. *Agr. Food Sci. Finland*, **9**, 187-200.
- Tolman, B.; McKusick, B.C. 2001. *Proc. 7th Great Lakes Dairy Sheep Symp.*, p.143-155.
- Zidi, A.; Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X.; Ghirardi, J.J.; Albanell, E. 2005. *ITEA, Vol. Extra*, **26**, 249-251.

EFFECTO DE TEMPERATURAS AMBIENTE ELEVADAS SOBRE LA INGESTIÓN VOLUNTARIA Y LA PRODUCCIÓN DE LA CERDA LACTANTE EN CONDICIONES COMERCIALES

Anguita, M., Barrufet, M., Cerisuelo, A., Manzanilla, E.G., Pérez, J.F., Gasa, J.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona.
Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193. Montserrat.anguita@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La lactación es una situación de gran demanda energética y de nutrientes para la cerda, por lo que una ingestión inadecuada favorece un menor crecimiento de la camada (Brendemuhl *et al.*, 1987), y una mayor movilización de reservas corporales de la cerda (King, 1987; Kirwood and Thacker, 1988). En consecuencia, la lactación representa un punto crítico sobre el arranque de los lechones, pero también sobre la producción de la cerda en ciclos posteriores. Los factores que afectan al consumo voluntario durante la lactación se agrupan en aquéllos propios de la cerda (ej. número de parto, composición corporal), los dependientes de la dieta (ej. digestibilidad, forma de presentación, etc) y los derivados del ambiente. Dentro de los factores ambientales destaca la temperatura ambiente. En el caso de la cerda, el límite superior de la zona de confort térmico se sitúa entre los 20 y 25 °C y cuando ésta se supera se producen disminuciones del consumo voluntario. Esta disminución en el consumo voluntario de la cerda se cifra en unos 130 gramos/día por cada grado que incrementa la temperatura entre los 16 y los 30 °C (Revisado por Quiniou y Noblet, 1999). El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar el consumo voluntario y la producción de las cerdas en lactación en dos épocas del año, primavera y verano.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en una granja comercial de Juneda (Lleida). La explotación cuenta con un total de 600 cerdas en producción, el trabajo se realiza en bandas de quince días, y la duración media de la lactación fue de 21 días. Las salas de maternidad permiten alojar a 8 cerdas y disponen de ventilación natural y un sistema de refrigeración "por goteo". El estudio se realizó en primavera y verano, incluyendo en cada estación dos bandas consecutivas. En cada banda se sometieron a estudio unas 40 cerdas representando un total de 80 cerdas por estación. En el estudio se incluyeron cerdas primíparas y múltiparas.

Controles y Dietas: Una semana antes de la fecha prevista de parto, se midió en las cerdas el espesor de grasa dorsal a nivel de la última costilla a aproximadamente 6,5 cm de la línea dorsal (P2). Esta medida se repitió a día 18 de lactación. Después del parto, se siguió la rutina de adopciones que se lleva normalmente en la granja con objeto de homogenizar por peso y número de lechones las camadas. Una vez realizadas las adopciones se pesaron individualmente los lechones de cada cerda, el pesaje se repitió igualmente en el día 18 de lactación. La producción de leche (l/d) se calculó como el incremento de peso de los lechones durante los 18 días de lactación, incluyendo el crecimiento de los lechones que murieron durante la lactación y teniendo en cuenta un factor de conversión de 4 (Pluske and Dong, 1998).

Se administró un pienso de lactación convencional de aproximadamente 12 MJ EM/kg, 16,5 %PB y 0,85 % Lisina. El control del consumo de pienso se inició el día 3 en primavera y el día 2 en verano y se terminó el día 18 de lactación en los dos casos. La oferta de pienso se realizaba en tres tomas: mañana, mediodía, y tarde, y ésta era siempre superior al consumo presentado por cada cerda. La ingestión se calculó mediante el registro del total de pienso ofertado y del total de pienso rechazado por cerda; el rechazo era recogido en su totalidad en cada toma, almacenado, pesado y muestreado.

El registro de la temperatura en cada sala de lactación se realizó diariamente a las ocho de la mañana. La temperatura media se calculó como la media entre el valor

mínimo y máximo registrados diariamente en cada sala y a lo largo del ciclo de lactación. La temperatura media en las salas de lactación en la primavera fue de 24,9 °C y en verano de 29,1 °C.

Estadística: Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SAS® 9.1 (2003). Por una parte se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para conocer el efecto de la estación, del número de parto, y el espesor de grasa dorsal sobre los parámetros estudiados. En general el modelo utilizado fue: $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$. Donde Y es la variable dependiente, α_i es la estación del año (i = primavera, verano), β es el grupo de parto (j= 1 (nulíparas), 2 (segundo y tercer parto), y 3 (más de tres partos)), γ es el grupo de espesor dorsal (k =1(inferior o igual a 15 mm), 2 (entre 16 y 19 mm), y 3 (superior a 19 mm)) y las respectivas interacciones.

La respuesta del consumo voluntario a la temperatura media de la sala, al número de parto y al espesor de la grasa dorsal de la cerda, fue estudiada mediante un análisis de la covarianza (ANCOVA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se presenta los resultados obtenidos. El total de cerdas estudiadas fue de 160, la mitad en primavera y la otra mitad en verano. El promedio del número de partos de las cerdas estudiadas fue de 3,58 en primavera y de 4,16 en verano. Por lo que se refiere al espesor de grasa dorsal, la media presentada por las cerdas en primavera fue de 17,0 mm, siendo menor que la observada en verano (18,5 mm; *P*-estación = 0,039), por ello los valores iniciales de espesor de grasa dorsal se tomaron como covariable en el análisis de los datos de espesor de grasa. A los 18 días de lactación, los valores de espesor de grasa dorsal en verano tendieron (*P* < 0,15) a ser inferiores a los presentados en la primavera. Como consecuencia, las pérdidas de grasa dorsal tendieron a ser superiores en verano comparadas con las pérdidas observadas en la primavera (-3,35 mm vs -2,70 mm). El consumo voluntario medio diario, estuvo influenciado por la estación del año, el grupo de parto de la cerda y el grupo de espesor de grasa dorsal, no observándose interacciones entre estos factores. En concreto, el consumo fue mayor en primavera que en verano (4,84 kg vs 3,69 kg), las cerdas de más de tres partos presentaron una mayor ingestión comparada con las de primer parto (4,48 kg vs 4,05 kg), y finalmente las cerdas con un espesor de grasa dorsal superior a 19 mm disminuyeron el consumo con respecto a las que presentaron valores inferiores a 16 mm (3,94 kg vs 4,59 kg).

Con respecto a la producción durante la lactación, el número inicial de lechones por camada en primavera fue de 10,4 y de 10,7 en verano (*P*-estación = 0,057), y su peso inicial fue de 1,62 kg y 1,61 kg respectivamente. No se observaron diferencias en el número de lechones a día 18 de lactación entre las dos estaciones estudiadas. Sin embargo, el peso de los lechones a día 18 de lactación fue superior en primavera que en verano (5,60 kg vs 4,71 kg). El número de parto también influyó en el peso final de los lechones, siendo este efecto dependiente de la estación del año (*P*-interacción = 0,066). En primavera el peso medio del lechón fue superior en las cerdas de segundo y tercer parto con respecto a los otros grupos de parto (5,84 kg vs 5,48 kg). En verano el peso medio del lechón fue inferior en primerizas que en los otros grupos de parto (4,27 kg vs 4,93 kg); indicando que la producción de la cerda en verano se reduce, en especial en las que son primíparas.

En el estudio de la covarianza los rangos de las covariables estudiados fueron de: 23,5 °C y 30,3 °C para la temperatura media, el número de partos de las cerdas osciló entre 1 y 12 partos, y el espesor de grasa dorsal lo hizo entre los 8 y los 34 milímetros. La relación que se obtuvo para el consumo medio diario (CMD, g/animal/día) a lo largo de los 18 días de lactación y tomando como covariables la temperatura media de la sala (Tm), el número de parto (NP) y espesor de la grasa dorsal de la cerda (P2, mm) fue el siguiente:

$$CMD \text{ (g/animal/día)} = 11.776,4 - 252,3 Tm + 216,0 NP - 17,4 NP^2 - 59,6 P2$$

$$\text{(Desviación estándar residual} = 893,1; r^2 = 0.349).$$

Los resultados indican que el incremento de un grado en la temperatura media disminuyó en 252,3 g/día el consumo voluntario de las cerdas. En el caso del número de parto, que presentó una relación cuadrática, el consumo medio diario incrementó en 461 gramos/día entre le primer y séptimo parto. Finalmente, el espesor de grasa dorsal determinó disminuciones en el consumo, en concreto la disminución fue de 59,6 g/día por milímetro de espesor de grasa dorsal. Resultados similares se han descrito en la literatura, para la temperatura (Stansbury *et al.*, 1987; McGlone *et al.*, 1988), número de parto (Koketsu *et al.*, 1996; Mahan, 1998) y espesor de grasa dorsal (Yang *et al.*, 1989).

BIBLIOGRAFÍA

• Brendemuhl, J.H:A., Lewis, J., y Peo, E.R. 1987. *Journal of Animal Science*, 64, 1060-1069. • King, R.H. 1987. *Pig News Info*, 8, 15. • Kirkwood, R.N., y Thacker P.A. 1988. *Pig News Info*, 9,15. • Koketsu, Y., Dial, G.D., Pettigrew, J.E., Marsh, W.E., King, V.L. 1996. *Journal of Animal Science*, 74: 1202-1210. • Mahan, D.C. 1998. *Journal of Animal Science*, 76, 533-541. • McGlone, J.J., Stansbury, W.F., Tribble, L.F., Morrow, J.L. 1988. *Journal of Animal Science*, 66, 1915-1919. • Pluske, J.R., y Dong, G.Z. Factors influencing En: Verstegen, MWA, Moughan, PJ and Schrama, JW eds. *The lactating sow*. Wageningen: Wageningen Press; 1998:45-70. • Quiniou, N., y Noblet, J. 1999. *Journal of Animal Science*, 77, 2124-2134. • Stansbury, W.F., McGlone, J.J., Tribble, L.F. 1987. *Journal of Animal Science*, 65, 1507-1513. • Yang, H., Eastham, P.R., Phillips, P., Whittemore, C.T. 1989. *Animal Production*, 48, 181-201.

Tabla 1. Efecto de la estación del año sobre el espesor de grasa dorsal, consumo medio diario y crecimiento de los lechones¹

	Estación		RSD	P-valores		
	Primavera	Verano		estación	grupo de parto	grupo P2
n	80	80				
Número de partos (media)	3,58 (1-12)	4,16 (1-9)	2,41	0,134	-	-
Espesor de grasa dorsal (en mm)						
Siete días antes del parto	17,0 (8-27)	18,5 (9-34)	4,52	0,039	ns	-
Al destete ²	15,0 (8-23)	14,4 (8-27)	2,34	0,119	ns	-
Pérdida de espesor de grasa ²	-2,71 (-10 +9)	-3,37 (-11 +6)	2,24	0,120	ns	-
Consumo medio diario de la cerda (g/día)	4.846 ^a (2.810 - 7.137)	3.698 ^b (1527 - 5897)	886,0	<0,001	0,006	0,012
Número inicial de lechones por camada	10,4 (8-13)	10,7 (8-14)	1,07	0,057	ns	ns
Número final de lechones por camada ³	9,67 (6-12)	9,82 (6-14)	1,203	ns	ns	ns
Peso medio inicial de los lechones	1.619 (1.072-2.432)	1.607 (950-2.420)	272,9	0,12	ns	ns
Peso medio final de los lechones ⁴	5.600 ^a (3.886-7.152)	4.715 ^b (2.563-6.456)	668,0	<0,001	0,005	ns
Producción de leche (l/día)	9,12 ^a (4,5-13,9)	7,26 ^b (3,17-11,9)	1,856	<0,001	0,141	ns

¹ Se presentan LSMEANS y el rango de los valores entre paréntesis. ² se incorporó en el estudio el espesor de grasa dorsal inicial como covariable. ³ se incorporó el número inicial como covariable. ⁴ se incorporó en el estudio el peso inicial como covariable.

^{a, b} reflejan diferencias entre valores de una misma fila.

EFEECTO DE LA INTERMITENCIA EN LA LACTANCIA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS DEL LECHÓN IBÉRICO

F. Gómez*, M.A. Aguinaga[#], R. Nieto[#] y J.F. Aguilera[#]

*Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A., Avda de Jérez s/n, 41012 Sevilla
correo-e: fernando.gomez@osborne.es

[#]Unidad de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Camino del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada. correo-e: rosa.nieto@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Con el destete se produce un cambio brusco en la naturaleza física y composición nutritiva del alimento que nutre al lechón, con alteración negativa e importante de su digestibilidad. Consecuencia de ello es la reducción en ingesta y ritmo de crecimiento que se observa tras el destete, que suele acompañarse de la aparición de episodios diarreicos. Estimular el consumo de alimento sólido durante la lactancia puede atenuar el estrés nutricional del destete y facilitar la transición hacia la alimentación sólida con reducción de los trastornos inmediatos al post-destete. Una vía eficaz de incrementar el consumo de alimento sólido en la lactancia consiste en impedir el acceso a la madre cada día durante un periodo suficientemente amplio en la etapa más avanzada de la lactancia. Esta práctica de manejo, denominada lactancia intermitente, se ha practicado con lactaciones prolongadas (35 o más días) o con sistemas más intensificados, y periodos de restricción variable, pero siempre en genotipos porcinos convencionales o mejorados (Thompson *et al.*, 1981; Kuller *et al.*, 2004). No conocemos que tal práctica se haya llevado a cabo en el lechón ibérico, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la lactancia intermitente, practicada durante la última semana de la lactación, sobre el consumo de alimento, ganancia de peso y otros índices productivos en el lechón ibérico en el post-destete.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se ha llevado a cabo con 19 cerdas Ibéricas de la estirpe Silvela, inseminadas con verracos de la misma estirpe, en segundo o tercer parto, alojadas una semana antes de la fecha prevista de parto en módulos individuales de 2,40 x 1,60 m dotados de jaula para cerda de 1,90 x 0,60 m, situados en una sala de maternidad con sistema de control ambiental. Cada parque, de suelo de PVC enrejillado, dispone de placa calefactora eléctrica para los lechones de 1,20 x 0,40 m, reguladas individualmente para proporcionarles una temperatura de 33 a 35°C el día del nacimiento y disminuirla conforme avanza la lactación. Los asignados a lactación intermitente disponían de una valla móvil que impedía el acceso de los lechones a la madre. Las cerdas recibieron un pienso comercial para lactación (EM, 12,76 MJ/Kg; PB, 144 g/Kg; Lisina, 6,8 g/Kg); 1,5 Kg, el día de parto, y cantidades progresivamente crecientes hasta alcanzar 4,5 Kg/día desde el 5º día de la lactación. Los animales dispusieron de agua a voluntad y luz permanente. Todos los partos tuvieron lugar en un periodo de 2 días. Inmediatamente tras el parto, el número de lechones se igualó a 7 por camada mediante ahijamiento cruzado, utilizando cerdas nodrizas cuando fue necesario.

A los 15 días de edad se inició la alimentación sólida (PB, 195 g/Kg; lisina, 14,0 g/Kg; Milkwean destete, Trouw Nutrition España, S.A.), ad libitum. El día 29 se asignaron al azar las camadas a uno de los dos tratamientos experimentales: control (C) y lactancia intermitente (LI). En el grupo control (10 camadas) los lechones tuvieron acceso las 24 horas del día a la madre; en el grupo con tratamiento LI (9 camadas), se impidió el acceso a la madre de acuerdo con la siguiente secuencia: días 29 y 30, de 8.00 a 14.00h (6 horas); días 31 y 32, de 8.00 a 16.00h (8 horas); días 33 y 34, de 8.00 a 18.00h (10 horas). El día 35 tuvo lugar el destete. Los lechones de un mismo tratamiento se trasladaron a un parque común donde recibieron a partir del día 36 un pienso de lechones (EM, 13,80 MJ/Kg; PB, 160 g/Kg; Lisina, 9,8 g/Kg) ad libitum y dispusieron de agua a voluntad. Los lechones se pesaron tras el nacimiento y a los 15, 28, 35, 42, 49, 56 y 60 días. El consumo de pienso se controló semanalmente. Paralelamente a los 28, 35 (destete) y 60 días de edad se sacrificó un

lechón por camada, tras la administración de 40mg/kg de pentotal sódico vía intraperitoneal y exsanguinación. Tras la extracción de las vísceras, se procedió al vaciado y limpieza del tracto gastro-intestinal y se registraron los pesos de órganos y del animal eviscerado.

Se utilizó el programa SPSS para Windows versión 14.0 (SPSS; Inc., 2005) para el tratamiento estadístico de datos, lo que se realizó mediante un ANOVA seguido del test de Tukey. El factor de comparación fue el tratamiento LI frente al tratamiento C. La tasa media de crecimiento se estimó como el valor del coeficiente de regresión de la regresión lineal establecida entre datos de peso y edad de los lechones. Las regresiones se ajustaron por el método de mínimos cuadrados, comparándose sus pendientes, cuando se estimó necesario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el número de lechones nacidos vivos (tratamiento C, $7,1 \pm 0,31$; tratamiento LI, $7,3 \pm 0,47$; $P > 0,05$), ni en el de lechones vivos al destete (se produjeron dos bajas (diarrea/desnutrición) en el grupo C y una en el grupo LI). Tampoco se apreciaron diferencias significativas entre tratamientos en el peso vivo de los lechones al nacimiento ($1360 \pm 21,1$ vs. $1400 \pm 22,4$ g, para los grupos C y LI, respectivamente; $P > 0,05$), lo que es importante dada la correlación positiva, comúnmente aceptada, entre el ritmo de ganancia de peso del lechón y su peso vivo al nacimiento. La Figura 1 recoge gráficamente los datos medios de consumo de alimento sólido y crecimiento obtenidos en los lechones sometidos o no a lactación intermitente. No se produjeron diferencias en consumo de alimento sólido previas a la iniciación del tratamiento LI el día 29 ($30,2 \pm 2,99$ vs. $23,4 \pm 4,44$, para los tratamientos LI y C, respectivamente; $P > 0,05$). Durante el periodo de restricción en el acceso a la madre el consumo de alimento sólido (g/lechón/día) fue significativamente superior en el grupo LI ($128,4 \pm 14,41$ vs. $66,1 \pm 18,09$; $P < 0,05$) y condujo a una ingesta media numéricamente superior en la semana inmediata posterior al destete ($359,5$ vs. $329,2$ g/lechón/día, para los grupos LI y C, respectivamente) con tendencia a desaparecer al avanzar el periodo de cría ($977,7$ y $960,6$ g/lechón/día, respectivamente para los grupos LI y C, entre los 56 y 60 días de edad. Resultados similares han sido descritos por Thompson *et al.* (1981) y Kuller *et al.* (2004) en lechones de genotipo magro. Correspondientemente, los ritmos de crecimiento (g/día) presentaron una diferencia sustancial estadística favorable al tratamiento LI en el periodo de restricción ($208,6 \pm 12,39$ vs. $169,9 \pm 10,97$, para los grupos LI y C, respectivamente; $P < 0,05$) que desapareció al avanzar el post-destete ($191,4 \pm 15,33$ vs. $159,1 \pm 13,66$ g/día entre los días 35 y 42, y $390,5 \pm 19,33$ vs. $390,9 \pm 17,72$ g/día, entre los 42 y 60 días de edad, respectivamente en los grupos LI y C; $P > 0,05$). En el ensayo de Kuller *et al.* (2004) el mayor consumo de alimento sólido durante el periodo de lactancia observado en las camadas sometidas a lactancia intermitente derivó en mayor ritmo de ganancia de peso en el post-destete, en concordancia con nuestras observaciones.

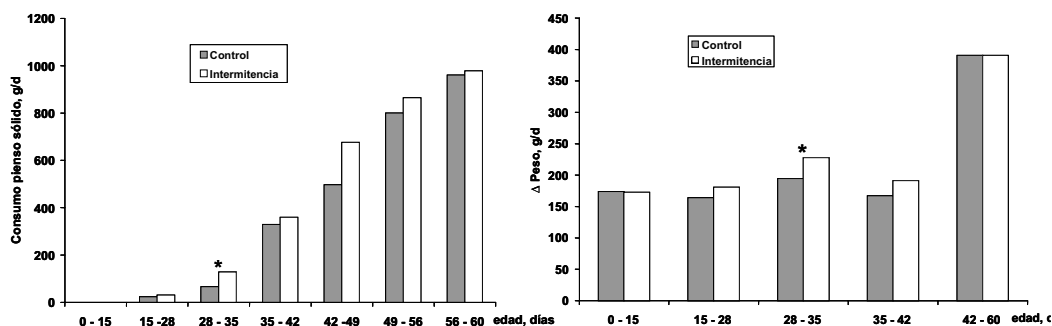


Figura 1. Evolución de la ingesta (g/día) y de la ganancia de peso vivo (g/día) de lechones ibéricos sometidos o no a lactancia intermitente.

Los coeficientes de regresión de las ecuaciones de regresión lineal que relacionan las variables edad (x, días) y peso vivo (y, g) de los lechones (Tabla 1) estiman el ritmo de ganancia de peso vivo (g/día) en los periodos de ensayo considerados.

Tabla 1. Valor del coeficiente de regresión de las ecuaciones de regresión lineal que relacionan la edad (x, días) y el peso vivo (y, g) de lechones ibéricos sometidos o no a lactancia intermitente (P<0,001)

Tratamiento	Periodo (días)		
	Lactación (0-35)	Post-destete (35-60)	Lactación + post-destete (0-60)
Control	176,1 ± 5,04	325,6 ± 19,00	222,3 ± 5,37
Lactancia intermitente	185,2 ± 4,68	340,7 ± 16,47	239,8 ± 5,00
Nivel de significación entre pendientes	P=0,08	NS	P<0,05

La comparación del valor de las pendientes correspondientes al periodo global de lactancia y post-destete indica mayor ritmo de crecimiento (P<0,05) de los lechones sometidos a lactancia intermitente frente a los del tratamiento control, lo que cabe atribuir al mayor consumo de alimento sólido experimentado en grupo con tratamiento LI (figura 1), que alcanza validez estadística durante la intermitencia (P<0,05). Las pendientes muestran tendencia a diferir en el periodo de lactación (P=0,08) y su diferencia carece de validez estadística cuando la comparación se limita al post-destete.

Aunque el peso vivo vacío del animal eviscerado fue numéricamente superior en los lechones sometidos al tratamiento LI, tanto en los lechones sacrificados al destete como a los 60 días de edad, las diferencias frente al tratamiento control carecieron de validez estadística (6,28±0,23 vs. 5,82±0,40 Kg, en los animales sacrificados al destete, y 11,9±0,48 vs. 11,2±0,68 Kg, en los sacrificados con 2 meses de edad, respectivamente para los grupos LI y C). El destete comporta descensos en el aporte de nutrientes tanto más importantes cuanto menor es la ingesta de alimento durante la lactancia, lo que puede causar reducción de peso de la mucosa intestinal y regresión en el desarrollo de las vellosidades intestinales, con pérdidas en la capacidad de absorción (Marion *et al.*, 2002). Al incentivar el consumo de alimento sólido la práctica de la lactancia intermitente puede evitar estas pérdidas en absorción neta de nutrientes (Nabuurs *et al.*, 1996). En el presente estudio el peso del tracto gastrointestinal no difirió significativamente entre tratamientos, aunque fue numéricamente superior en los lechones sometidos a lactancia intermitente, tanto en los animales sacrificados al destete (511±22,5 vs. 493±33,4 g) como en los sacrificados al alcanzar 60 días de edad (1412±56,5 vs. 1329±56,1 g). Si esto comporta una mayor capacidad de absorción se podrá dilucidar cuando concluyan las investigaciones en curso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kuller, W.I., Soede, N.M., van Beers-Schreurs, H.M.G., Langendijk, P., Taverne, M.A.M., Verheijden, J.H.M., Kemp, B. 2004. Intermittent suckling: Effects on piglet and sow performance before and after weaning. *J. Anim. Sci.* 82: 405-413.
- Marion, J., Biernat, M., Thomas, F., Savary, G., Le Breton, Y., Zabielski, R., Le Hiérou-Luron, I., Le Dividich, J. 2002. Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effects of level of energy intake. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 339-354.
- Nabuurs, M.J.A., Hoogendoorn, A., Van Zijderveld-Van-Bemmel, A. 1996. Effect of supplementary feeding during the sucking period on net absorption from the small intestine of weaned pigs. *Res. Vet. Sci.* 61: 72-77.
- Thompson, L.H., Hanford, K.J., Jensen, A.H. 1981. Estrus and fertility in lactating sows and piglet performance as influenced by limited nursing. *J. Anim. Sci.* 53: 1419-1423.

INFLUENCIA DEL BALANCE ELECTROLÍTICO SOBRE LOS RESULTADOS PRODUCTIVOS EN LECHONES

Lizardo, R., Salomó, J., Brufau, J., Esteve, E.
 IRTA - Nutrición Animal, Mas de Bover, Ctra Reus-El Morell km 3.8, 43120 Constantí
rosil.lizardo@irta.es

INTRODUCCIÓN

El equilibrio hidro-electrolítico del organismo se basa en mecanismos de regulación que permiten utilizar el agua y los electrolitos (Na^+ , K^+ , Cl^- y HCO_3^-) suministrados por los alimentos. El alimento influye igualmente en el equilibrio ácido-base del cerdo (Patience y Wolynetz, 1990) y su poder acidogénico o alcalinogénico se puede evaluar a partir del balance entre cationes ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$) y aniones ($\text{Cl}^- + \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{HPO}_4^{2-} + \text{SO}_4^{2-}$). Aunque este balance, conocido como el del anión indeterminado sea el más adecuado (Patience y Chaplin, 1997), en nutrición de monogástricos se suele únicamente considerar el balance electrolítico (BE; Mongin, 1981), o sea el balance de iones monovalentes ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$). Cuanto más bajo es el BE, más acidogénico es el alimento y, a la inversa, cuanto más alto es el BE más alcalinogénico es el alimento.

Los piensos para porcino tienen tendencia a contener cada vez menos materias primas ricas en proteína, debido al riesgo de contaminación medio-ambiental por nitratos y a la creciente disponibilidad de aminoácidos sintéticos. Por otro lado, a raíz de la prohibición de utilización de los antibióticos promotores del crecimiento como aditivos se tiende a generalizar la utilización de acidificantes en los piensos, sobre todo en los destinados a los lechones. Estos cambios en la formulación conducen a la fabricación de piensos con un BE bajo. Hay, sin embargo, algunos estudios indicando que la utilización de piensos con un BE bajo conlleva a una reducción de los resultados productivos en porcino (Bonsembiante y Chiericato, 1994; Medel *et al.*, 1999; Quiniou 2002).

El bicarbonato sódico (NaHCO_3) es una fuente de electrolitos que presenta la ventaja de aportar sodio sin incorporar cloruros y viene siendo regularmente utilizado como sustancia tampón en los piensos de rumiantes o para combatir el estrés térmico en avicultura. En porcino podría ser particularmente interesante para corregir el BE y por ello se ha utilizado en este trabajo experimental, en el cual se pretende estudiar la influencia del BE sobre los resultados productivos en lechones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 96 lechones Landrace puro, los cuales fueron distribuidos de forma equilibrada entre los tratamientos experimentales en base al peso vivo y sexo. Para cada tratamiento se han tomado 8 corrales con 4 animales en cada uno de ellas, es decir, 32 animales por tratamiento. Los lechones fueron alojados en una sala equipada con control automático de ventilación y temperatura, y con un suelo emparrillado total.

Tras el destete, todos los lechones fueron alimentados con un mismo pienso comercial medicado con colistina y óxido de zinc durante 2 semanas. Transcurrido este período, les han sido administrados los piensos experimentales *ad libitum* durante 4 semanas (Tabla 1). Los piensos fueron formulados en base a un contenido de 3250 y 3200 kcal/kg de energía metabolizable, y 12,45 y 10,50 g/kg de lisina digestible ileal estandarizada respectivamente en 2ª edad y pre-engorde (tabla 1). Los tratamientos experimentales correspondieron a 3 dietas cuyo BE se ajustó con bicarbonato sódico (Bicar[®]Z, Solvay, España) a 100, 200 y 300 mEq/kg. En todos los piensos se añadió un 1% de un acidificante comercial (Apsacid[®], A. Pintaluba, España). Durante el ensayo se controló el consumo de pienso, la ganancia de peso vivo y el índice de conversión. Los datos experimentales fueron analizados según el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del BE sobre los parámetros productivos de peso vivo, ganancia de peso, consumo de pienso y del índice de conversión se presenta en la tabla 2. El peso vivo de los lechones al inici

del ensayo fue de 11,30 kg y absolutamente idéntico para todos los tratamientos experimentales. Tanto en 2ª edad como en pre-engorde o en el transcurso de todo el ensayo, no se observaron diferencias de consumo diario de pienso con el cambio del BE. Sin embargo, desde la 2ª edad que se observa un incremento significativo de alrededor del 12% en la ganancia diaria de peso a aumentar el BE de los piensos.

Una tendencia similar se observa en pre-engorde o durante todo el ensayo. Los lechones alimentados con el pienso de BE más elevado (300 mEq/kg) crecieron un 7,5% más que los del BE más bajo (100 mEq/kg). En consecuencia, los lechones del BE más elevado alcanzaron un peso vivo final más elevado. Aunque estadísticamente no significativa, igualmente se observó una tendencia de mejora del índice de conversión, al incrementar el BE, tanto en 2ª edad, como durante todo el ensayo.

Estos resultados están de acuerdo con otros observados anteriormente en lechones recién destetados (Golz y Crenshaw, 1990), en lechones en pre-engorde (Patience *et al.*, 1987; Patience y Wolinetz, 1990) o en cerdos de engorde (Haydon *et al.*, 1990; Medel *et al.*, 1999). Asimismo también se observó una mejora de la digestibilidad de los principales nutrientes de la dieta con el aumento del BE (Patience *et al.*, 1986; Haydon y West, 1990), lo que podría contribuir a explicar la mejora de resultados observados.

El incremento del BE resulta de la incorporación de bicarbonato sódico en sustitución de la sal en los piensos, aumentando el nivel de sodio y reduciendo el de los cloruros. Una concentración elevada de cloruros podría tener un efecto negativo sobre el consumo de pienso (Yen *et al.*, 1981). Sin embargo, esto no se ha observado en el experimento quizá porque la concentración de cloruros utilizada no fue excesiva.

Por otro lado, el bicarbonato sódico es una sustancia tampón y como tal podría afectar la eficacia del acidificante incorporado en los piensos. Sin embargo, la utilización combinada de ambos en el pienso no ha afectado negativamente los resultados productivos una vez que no se ha observado efecto contraproducente alguno. Parece ser que la acción del acidificante solo se ve afectada si la capacidad tampón del pienso sobrepasa 750 mEq/kg (Quiniou, 2002) y esto no ocurrió. En consecuencia, se puede decir que la utilización combinada del bicarbonato sódico y de acidificantes es factible en los piensos para lechones.

En conclusión, los resultados del ensayo sugieren que el BE puede influir en el crecimiento de los lechones. Por ello, sería recomendable tener en cuenta este parámetro en la formulación de piensos para porcino y de acuerdo con las necesidades de cada estado fisiológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bonsembiante M., Chiericato G.M.;** 1994. Il bicarbonato di sodio nell'alimentazione del suino da carne. Rivista di Suinicoltura 1: 3-11.
- Golz D.I., Crenshaw T.D.;** 1990. Interrelationships of dietary sodium, potassium and chloride on growth in young swine. J. Anim Sci. 68: 2736-2747.
- Haydon K.D., West J.W.;** 1990. Effect of dietary electrolyte balance on nutrient digestibility determined at the end of the small intestine and over the total digestive tract in growing pigs. J Anim Sci. 68: 3687-3693.
- Haydon K.D., West J.W., McCarter M.N.;** 1990. Effect of dietary electrolyte balance on performance and blood parameters of growing-finishing swine fed in high ambient temperatures. J Anim Sci. 68: 2400-2406.
- Medel P., Acedo-Rico J., Moreno R., Mateos G.G.;** 1999. Efecto de la variación del balance electrolítico sobre la productividad en el cebo de ganado porcino. ITEA, Vol. Extra, 20(2): 460-462.
- Mongin P.;** 1981. Recent advances in dietary anion-cation balance in poultry. In: Recent Advances in Animal Nutrition, Ed. W. Haresign, Butterworths, London, 109-119
- Patience J.F., Wolynetz M.S.;** 1990. Influence of dietary undetermined anion on acid-base status and performance in pigs. J. Nutr. 120: 579-587.
- Patience J.F., Chaplin R.K.;** 1997. The relationship among dietary undetermined anion, acid-base balance, and nutrient metabolism in swine. J. Anim Sci. 75: 2445-2452.

Patience J.F., Austic R.E., Boyd R.D.; 1986. The effect of sodium bicarbonate or potassium bicarbonate on acid-base status and protein and energy digestibility in swine. *J Anim Sci* 6: 263-273.

Patience J.F., Austic R.E., Boyd R.D.; 1987. Effect of dietary electrolyte balance on growth and acid-base status in swine. *J. Anim. Sci.* 64: 457-466.

Quiniou N. ; 2002. Le point sur l'équilibre acido-basique chez le porc et le bilan électrolytique des aliments. *Techni-Porc* 25: 19-24.

Yen J.T., Pond W.G., Prior R.L.; 1981. Calcium chloride as a regulator of feed intake and weight gain in pigs. *J Anim Sci* 52: 778-782.

Tabla 1. Composición (%) y análisis químico de las dietas experimentales.

Piensos	2ª edad			pre-engorde		
	100	200	300	100	200	300
Balance electrolítico						
Ingredientes principales						
Cereales (maíz, trigo, cebada)	67,71	65,64	63,36	75,46	71,48	69,63
H. soja 48%, conc. prot. patata	14,52	15,42	16,99	14,91	18,16	18,58
Sal (cloruro sódico)	0,67	0,49	0,15	0,38	0,15	0,15
Bicarbonato sódico	---	0,79	1,54	---	0,66	1,48
Análisis químico						
Energía (MJ EN/kg) ^a	10,34	10,33	13,33	10,14	10,11	10,12
Lisina digestible, % ^a	1,25	1,25	1,25	1,04	1,05	1,05
Sodio, % ^b	0,35	0,49	0,58	0,23	0,30	0,52
Cloruros, % ^b	0,75	0,63	0,42	0,41	0,25	0,27
Potasio, % ^b	0,66	0,66	0,69	0,59	0,66	0,64
BE, mEq/kg ^b	119,9	204,8	311,2	135,1	227,8	314,9

^a valores de formulación; ^b valores de análisis.

Tabla 2. Influencia del BE de los piensos sobre los resultados productivos.

Balance electrolítico	100	200	300	Estadística	
				P	RSD
Resultados en 2ª edad					
Peso vivo inicial (kg)	11.29	11.29	11.31	NS	0.03
Ganancia de peso (g/d)	480.8	503.7	527.1	0.28	55.3
Consumo de pienso (g/d)	756.5	709.3	758.8	0.46	86.9
Índice conversión (kg/kg)	1.58	1.40	1.45	0.30	0.22
Resultados en pre-engorde					
Peso vivo intermedio (kg)	18.09	18.33	18.94	0.12	0.79
Ganancia de peso (g/d)	549.8	544.2	564.8	0.70	49.9
Consumo de pienso (g/d)	885.5	879.5	877.9	0.99	163.5
Índice conversión (kg/kg)	1.62	1.62	1.56	0.87	0.27
Resultados globales					
Ganancia de peso (g/d)	517.6	523.3	554.9	0.07	31.8
Consumo de pienso (g/d)	821.0	794.4	818.3	0.68	65.1
Índice conversión (kg/kg)	1.59	1.52	1.48	0.40	0.36
Peso vivo final (kg)	25.79	25.94	26.85	0.06	0.88

^a RSD: desviación estándar residual del modelo.

INFLUENCIA DE LA SUSTITUCIÓN DE PRODUCTOS DE SOJA POR CONCENTRADO DE PROTEÍNA DE GUISANTE SOBRE LOS PARÁMETROS DIGESTIVOS DE LECHONES

Valencia, D. G., Serrano, M. P., Lázaro, R., Mateos, G. G.
Departamento de Producción Animal, U.P. Madrid
Senda del Rey s/n, 28040 Madrid. E-mail: gonzalo.gmateos@upm.es (G. G. Mateos)

INTRODUCCIÓN

El guisante es una buena fuente de nutrientes en dietas de cerdos. Su uso está limitado por sus efectos negativos sobre la palatabilidad y la digestibilidad de los nutrientes. En guisantes crudos el efecto negativo puede deberse a su contenido en inhibidores de la tripsina (IT) (Gatel y Grosjean, 1990). El concentrado de proteína de guisante se obtiene mediante un proceso de descascarillado, molienda fina y clasificación por aire que separa la fracción fina (proteína) de la fracción gruesa (almidón). El producto final del proceso contiene aproximadamente 40-60% PB y 8-28% de almidón (Vose *et al.*, 1976). Por otro lado, el haba de soja procesada (HSC) de forma correcta es una buena fuente de proteína y energía para lechones, sin embargo los factores antigénicos presentes en el HSC no pueden ser destruidos por el procesamiento térmico y deben ser desactivados mediante extracción alcohólica o por fermentación. Los concentrados de proteína de soja (CPS) son el resultado de reducir el contenido de fibra, lectinas, IT, oligosacáridos y proteínas alergénicas de la harina de soja. Hay disparidad de resultados sobre los efectos de sustituir la harina o el haba por concentrados de proteína de soja. Así, Zhu *et al.* (1998) observaron un incremento de la digestibilidad y la productividad de al cuando reemplazar la harina o el haba por concentrado de soja. En cambio, Friesen *et al.* (1993) concluyeron que el uso de productos de soja menos refinados puede dar lugar a crecimientos y digestibilidades de nutrientes comparables a los obtenidos con concentrados de proteína de soja. El objetivo de este ensayo fue evaluar el uso de concentrado de proteína de guisante, concentrado de proteína de soja, harina de soja 44% PB y de haba de soja cocida sobre los parámetros digestivos de lechones.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el ensayo 1, se determinó la digestibilidad fecal aparente (DFA) de los nutrientes tomando muestras de heces mediante palpación rectal de al menos 4 lechones por réplica a 36 y 48 días de edad. Para ello se usaron 120 lechones con 22 ± 2 días de edad y $6,18 \pm 1,38$ kg de peso seleccionados de una granja comercial de Proinserga (Segovia, España) el día del destete. De 22 a 25 días de vida los lechones consumieron un pienso prestarter común y a continuación recibieron sus respectivos piensos experimentales que se suministraron *ad libitum* en forma de pellet (2,5 mm \varnothing) de 26 a 48 días de edad. Se utilizaron cuatro piensos experimentales isonutritivos formulados en base al valor nutritivo de ingredientes de las Tablas FEDNA (2003) que incluían en cada caso un 5,5% de la proteína de la dieta en base a los ingredientes a testar: concentrado de proteína de guisante (CPG, 52,5%), CPS (54,6% PB), harina de soja (HS45, 45,2% PB) y haba de soja cocida (34,9% PB). La proteína de la dieta restante fue aportada por harina de pescado. Los piensos experimentales tenían un contenido aproximado de 2.490 kcal EN/kg, 21,3% PB y 1,28% de lisina digestible. Ninguno de los piensos incluyó promotor de crecimiento alguno. Para incrementar el contenido de cenizas insolubles en ácido se añadió un 1% de celite (Celite, Ceca, Saint-Bautizile, France) en los piensos. El CPG se obtuvo a partir de un lote de guisante crudo (25,6% de PB) de origen nacional suministrado por Esasa, S.A. (Valladolid, España). Los guisantes se descascarillaron y se molieron usando un molino de impacto con una autoclasificadora de aire integrada (Circoplex mill 200 ZPS, Hosokawa-Alpine, Ausburg, Alemania). La materia prima original se molió a un tamaño medio de partícula de 47,6 μ m y a continuación se separó la proteína del almidón por medio de un equipo de aero clasificación Turboplex (Turboplex ATP 200, Hosokawa-Alpine, Ausburg, Alemania). El concentrado de proteína de soja fue obtenido de un proveedor convencional y fue producido por medio de un proceso enzimático y fermentativo a partir de harina de soja

descascarillada. La harina de soja comercial se obtuvo a partir de habas de soja originarias de Estados Unidos que fueron molidas y procesadas por Bunge (La Coruña, España). El haba de soja fue proporcionada por un proveedor local y fue producida a partir de habas de origen brasileño. Las habas fueron molidas, cocidas (Amandus Kahl, Reinbek, Alemania) durante 1 hora ($105 \pm 5^\circ\text{C}$), expandidas a 117°C (Amandus Kahl, Reinbek, Alemania), enfriadas, secadas y pasadas a través de un molino de martillo provisto con una criba de 2,5 mm.

En el ensayo 2, se midió la digestibilidad ileal aparente (DIA) de los nutrientes, el peso de los órganos digestivos y el pH del tracto gastrointestinal (TGI) a 48 días de edad. Para ello se usaron 24 lechones con 27 ± 3 días de edad y $7,22 \pm 1,19$ kg de peso. Las condiciones de manejo y alimentación fueron similares a las del ensayo 1. A los 47 días de edad los cerdos fueron ayunados durante 12 horas y a continuación fueron alimentados durante 6 horas y sacrificados por medio de desangrado (previa anestesia con 20 mg Ketamina/kg peso + 2,2 mg de Xylazil/kg peso). Se removieron y se pesaron el estómago, páncreas e hígado de cada cerdo y se separaron el intestino delgado (duodeno, yeyuno e ileon) y el intestino grueso. El peso de los órganos digestivos y los intestinos vacíos se calculó en proporción del peso vivo (PV). A continuación se tomaron 20 mL de digesta de cada tramo para medir el pH (CRISON GLP 21, Crisol Instruments Barcelona, Spain). Para la determinación de la DIA de los nutrientes se tomaron 20 g de digesta de los últimos 20-40 cm del ileon de cada cerdo.

En ambos ensayos se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos, con cinco (seis lechones en el ensayo 1) o seis (1 lechón en el ensayo 2) réplicas por tratamiento. Los datos se analizaron usando el procedimiento GLM de SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1990) para diseños completamente al azar. En el modelo se incluyeron el efecto de la fuente de proteína y del tipo de producto de soja. Se llevaron a cabo comparaciones para determinar las diferencias entre fuentes de proteína (CPG vs. productos basados en soja) y entre productos de soja (CPS vs. HS45 vs. HSC). Cuando las diferencias entre productos de soja fueron significativas ($P < 0,05$) se llevó a cabo un test-t para la separación de medias. El análisis de la DFA se llevó a cabo mediante el procedimiento Mixed de SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en IT fue mayor para el CPG (4,9 g/kg) y el HSC (4,7 g/kg) que para el CPS (1,6 g/kg) y la HS45 (2,7 g/kg). La solubilidad en KOH fue alta para el CPG (90,8%) y baja para el CPS (49,8%) con valores intermedios para HS45 y HSC (80,5 y 85,8%, respectivamente). En general, la digestibilidad fecal de los nutrientes aumentó con la edad ($p < 0,05$). Los cerdos que consumieron productos de soja tendieron a presentar mayor DFA (85,5 vs. 83,8%; $p < 0,10$) y DIA de la proteína (75,7 vs. 73,7%; $p < 0,10$) y mayor DIA de la cistina (68,9 vs. 64,9%; $p < 0,05$) que los lechones que consumieron CPG. EL uso de diferentes productos de soja no influyó sobre la DFA de los nutrientes ($p > 0,10$). Los cerdos que consumieron CPS y HS45 presentaron mayor DIA de la materia orgánica (81,3 y 81,3 vs. 76,8%) y de la energía bruta (80,1 y 81,6 vs. 76,8%) que los cerdos que consumieron pienso con HSC ($p < 0,01$). El pH del TGI no se vio afectado por los diferentes tratamientos ($p > 0,10$). Los cerdos que consumieron HSC presentaron TGI más pesados que los cerdos que consumieron HS45 (61,0 vs. 52,8 g/kg PV; $p < 0,05$).

El guisante crudo contiene IT, lectinas, entre otros factores antinutritivos (Gatel y Grosjean, 1990). Además, la presencia de proteínas antigénicas (Creview-Gabriel, 1999), oligosacáridos y polisacáridos no amiláceos (Abrahamsson *et al.*, 1993) pueden reducir también la digestibilidad de los nutrientes. Probablemente el proceso de aero clasificación para separar la fracción proteica del almidón de guisante concentra los IT (Owusu-Ansah y McCurdy, 1991) y oligosacáridos (Vose *et al.*, 1976) en la fracción proteica. Nuestros resultados sobre DIA de la PB están de acuerdo con los datos obtenidos por Gatel (1994) comparando guisantes con harina de soja. El contenido de IT del CPG y de la HSC fue superior al del SPC y de la HS45, lo que puede explicar en parte la baja digestibilidad de los nutrientes obtenida con estos piensos. Los IT reducen la actividad de la tripsina e incrementan las pérdidas endógenas de nitrógeno y

aminoácidos (Boisen y Moughan, 1996) y en consecuencia reducen la digestibilidad del nitrógeno. Cook *et al.* (1988) observaron una mejora en la DIA de la proteína y la energía de la dieta en lechones al sustituir haba de soja cruda (1,6 g IT/kg pienso) por haba de soja extrusionada (0,2 g IT/kg pienso). Hay controversia sobre los efectos de sustituir harina de soja y haba de soja por concentrados de proteína de soja. Así Zhu *et al.* (1998) observó mejoras en la digestibilidad de nutrientes, mientras que Friesen *et al.* (1993) no encontró ningún efecto.

CONCLUSIONES

La inclusión de concentrado de proteína de guisante en dietas de lechones de 26 a 48 días de edad reduce la digestibilidad de la proteína y la cistina. El uso de haba de soja procesada térmicamente con 4,7 g/kg de IT reduce la digestibilidad de la materia orgánica y de la energía bruta. No se observó efecto positivo alguno al reemplazar la harina de soja 45,2% PB por el concentrado de proteína de soja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Abrahamsson, M., Graham, H., Dandanell, Y., Aman, P., 1993. Ileal and faecal digestibility of light- or dark-coloured peas (*Pisum sativum*) in growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 42, 15-24. • Boisen, S., Moughan, P.J., 1996. Dietary influences on endogenous ileal protein and amino acids loss in the pig. A review. *Acta Agric. Scand. Sect. A, Anim. Sci.* 46, 154-164. • Cook, D.A., Jensen, A.H., Fraley, J.R., Hymowitz, T., 1988. Utilization by growing and finishing pigs of raw soybeans of low Kunitz trypsin inhibitor content. *J. Anim. Sci.* 66, 1686-1691. • Crevieu-Gabriel, I., 1999. Digestión des protéines végétales chez les monogastriques. Exemple des protéines de pois. *INRA Prod. Anim.* 12, 147-161. • Friesen, K.G., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Behnke, K.C., Kats, L.J., 1993. The effect of moisture extrusion of soy products on growth performance and nutrient utilization in the early-weaned pig. *J. Anim. Sci.* 71, 2099-2109. • Fundación Española Desarrollo Nutrición Animal, 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, 2nd edition. De Blas, C., Mateos, G.G., and Rebollar, P.G. (Eds.). Fedna, Madrid, Spain. • Gatel, F., 1994. Protein quality of legume seeds for non-ruminant animals: a literature review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 45, 317-348. • Gatel, F., Grosjean, F., 1990. Composition and nutritive value of peas for pigs: a review of European results. *Livest. Prod. Sci.* 26, 155-175. • Owusu-Ansah, Y.J., McCurdy, S.M., 1991. Pea proteins: A review of chemistry, technology of production, and utilization. *Food Rev. Inter.* 7, 103-113. • Statistical Analysis Systems Institute, 1990. SAS user's guide: statistics. Version 6, 4th edition. Cary, NC, USA. • Statistical Analysis Systems Institute, 1992. SAS Technical Report P-229, SAS statistics software: Changes and Enhancements, Release 6.07, Cary, NC, USA. • Vose, J.R., Basterrechea, M.J. Gorin, P.A.J., Finlayson, A.J., Youngs, C.G., 1976. Air classification of field peas and horsebean flours: chemical studies of starch and protein factors. *Cereal Chem.* 53, 928-936. • Zhu, X., Li, D., Qiao, S., Xiao, C., Qiao, A., Ji, C., 1998. Evaluation of HP-300 soybean in starter pigs diets. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 9, 1271-1276.

EFFECTO DEL SALVADO DE TRIGO Y DE LA PULPA DE REMOLACHA EN LA RACIÓN SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y LA MADURACIÓN DIGESTIVA EN LECHONES RECIÉN DESTETADOS

Molist, F.*, Gómez de Segura, A., Manzanilla, E.G., Gasa, J., Hermes, R.G., Pérez, J.F.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona
Bellaterra 08193, Barcelona. (*francesc.molist@uab.es)

INTRODUCCIÓN

La prohibición del uso de antibióticos promotores del crecimiento en los piensos estimula el interés por buscar estrategias nutricionales encaminadas a mejorar la salud intestinal de los animales. En la producción porcina, la etapa de transición al alimento sólido desde la lactancia es posiblemente el periodo más crítico para los lechones, y el momento en el que han de establecerse las poblaciones microbianas en su tracto digestivo.

La utilización de raciones de elevada digestibilidad, basadas en arroz cocido y proteína de origen animal (Montagne *et al.*, 2004), han mostrado un efecto beneficioso sobre los lechones al reducir el sustrato digestivo y la población de enterobacterias en el tracto gastrointestinal. En esta misma línea, algunos autores han relacionado el aporte de dietas ricas en NSP con incrementos en la población de *E.coli* en el intestino delgado con el riesgo de sufrir colibacilosis (Hopwood *et al.*, 2004). Sin embargo, otros autores (Freire *et al.*, 2000, Bikker *et al.*, 2006) sugieren la incorporación de ingredientes fibrosos tras el destete como estrategia para favorecer la maduración digestiva y reducir la fermentación proteica en el tracto gastrointestinal.

El objetivo de este experimento era evaluar el efecto de la inclusión de salvado en hoja, tercerillas o pulpa de remolacha en la ración, sobre la población microbiana intestinal y la liberación de productos de fermentación en lechones recién destetados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas: Se utilizaron 48 animales con un peso inicial de 7.4 ± 0.76 kg y 25 ± 0.76 días de edad recién destetados, organizados en función del peso y distribuidos en cuatro salas de seis boxes (2 animales/box). Se administró a los lechones seis dietas experimentales diferenciadas en el contenido y tipo de fibra. Se partió de una dieta estándar (STD) basada en maíz, trigo, y concentrado de proteína de soja. El resto de tratamientos se obtuvieron a partir de la dieta STD, sustituyendo parte de sus ingredientes mayoritarios por: un 8% de salvado en hoja (WB), un 8% de tercerillas (WM), un 6% de pulpa de remolacha (SB), la combinación de 4% WB y 3% SB (WB-SB) o 4% WM y 3% SB (WM-SB). Las raciones se administraron a voluntad durante un periodo de 15 días, periodo durante el que se registró el consumo de pienso y la ganancia de peso, y se sacrificó la mitad de los animales el día 10 y la otra mitad el día 15. Inmediatamente tras el sacrificio se extrajo el tracto digestivo, se pesaron sus diferentes compartimentos llenos y vacíos, y se recogieron muestras de contenido cecal y rectal para analizar la población microbiana mediante la técnica de PCR cuantitativa, y la concentración de ácidos grasos volátiles resultantes de su actividad.

Estadística: Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.1 siguiendo el modelo:

Variable dependiente_{ijk} = media + dieta_i (1,...6) + tipo de salvado_j (STD, WB, WM) + efecto pulpa de remolacha^k (no/sí inclusión) + error^{ijk}

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales alimentados con pulpa de remolacha y los que ingirieron la dieta WB mostraron un mayor consumo de alimento en los dos periodos de estudio resultando así en una mayor ganancia media diaria de los lechones y un mayor peso vivo al sacrificio (datos no presentados).

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los recuentos de enterobacterias y *Lactobacillus* así cómo la relación entre ambas poblaciones en digesta cecal y heces de los animales sacrificados el día 10 y 15. En los animales sacrificados el día 10, la inclusión de pulpa de remolacha incrementó la población de *Lactobacillus* y tendió a reducir las enterobacterias en heces. En el día 15, la inclusión de salvado en hoja (WB y WB-SB) disminuyó la población de enterobacterias y aumentó la relación exponencial *Lactobacillus*:enterobacterias en relación al día 10 y el resto de dietas en ciego y heces. Este efecto no se observó con la incorporación de tercerillas en el pienso (WM, WM-SB). Las diferencias observadas entre ingredientes fibrosos pueden reflejar sus diferentes patrones de fermentación, y posiblemente sus efectos sobre las características físico-químicas de la digesta, que están asociadas a su composición y tamaño de partícula.

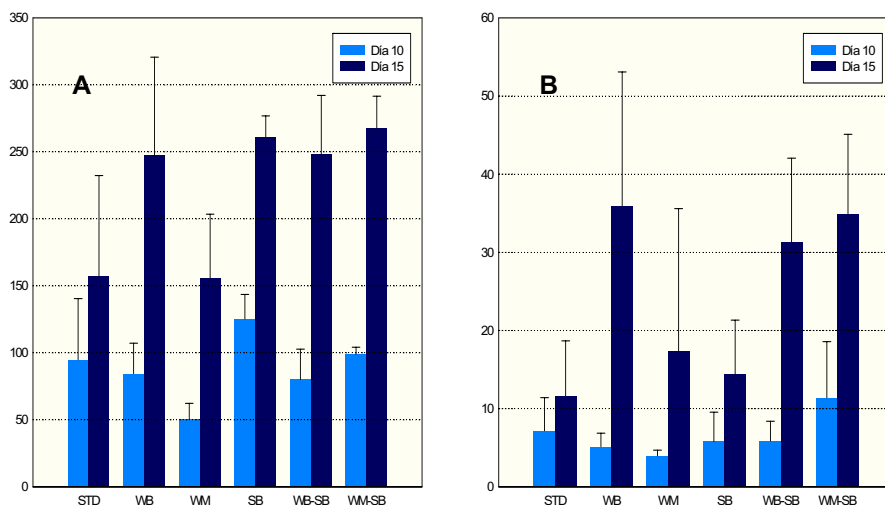
Tabla 1. Poblaciones bacterianas (enterobacterias y *Lactobacillus*) obtenidas mediante PCR a Tiempo Real (Log copias del gen 16S rDNA /g MS) en la digesta del ciego y heces de lechones recién destetados.

	Dietas						P-valor			
	STD	WB	WM	SB	WB+SB	WM+SB	SEM	WB	SB	WB*SB
Enterobacterias										
<i>Día 10</i>										
Ciego	11.19	11.37	11.62	11.40	11.57	10.57	0.588	0.487	0.417	0.101
Heces	11.98	11.53	11.69	11.16	11.50	11.04	0.637	0.821	0.079	0.440
<i>Día 15</i>										
Ciego	11.13 ^x	9.99 ^y	11.73 ^x	10.81 ^x	8.25 ^y	11.65 ^x	0.957	0.003	0.154	0.357
Heces	10.32 ^x	9.18 ^y	11.47 ^x	10.90 ^x	8.68 ^y	11.89 ^x	0.937	0.004	0.745	0.601
<i>Lactobacillus</i>										
<i>Día 10</i>										
Ciego	11.21	11.21	10.86	11.06	11.35	12.10	0.659	0.619	0.158	0.123
Heces	11.70 ^y	11.40 ^y	11.14 ^y	11.80 ^x	11.72 ^x	11.95 ^x	0.369	0.492	0.016	0.190
<i>Día 15</i>										
Ciego	11.67	11.99	11.59	11.90	11.87	12.11	0.367	0.769	0.196	0.277
Heces	10.95	11.78	10.99	11.59	11.62	11.97	0.696	0.475	0.133	0.323
<i>Lactobacillus</i>:enterobacterias										
<i>Día 10</i>										
Ciego	0.02	-0.16	-0.76	-0.34	-0.23	0.97	0.862	0.812	0.282	0.114
Heces	-0.28 ^y	-0.14 ^y	-0.56 ^y	0.20 ^x	0.22 ^x	0.93 ^x	0.585	0.760	0.006	0.164
<i>Día 15</i>										
Ciego	0.40 ^{xy}	1.81 ^x	-0.14 ^y	1.09 ^{xy}	3.06 ^x	0.31 ^{xy}	1.222	0.027	0.211	0.869
Heces	0.63 ^y	2.69 ^x	-0.47 ^y	0.69 ^y	3.29 ^x	0.23 ^y	1.510	0.025	0.584	0.925

En la Figura 1 se presenta la concentración (μ moles/g MF) del total de ácidos grasos volátiles (Fig. 1A) y butírico (Fig. 1B) en digesta cecal. La concentración de ácidos grasos volátiles se incrementó notablemente entre los días 10 y 15, reflejando un incremento de la

actividad microbiana, y a pesar de no observar diferencias en los contajes microbianos. Esta evolución puede estar asociada al incremento en el consumo de alimento y de la fermentación durante este periodo. La incorporación de pulpa de remolacha (SB, WB-SB, WM-SB) aumentó la concentración total de AGV y redujo el porcentaje de ácidos grasos ramificados tanto el día 10 como el 15, como reflejo de su mayor fermentescibilidad. La incorporación de salvado en hoja incrementó significativamente la concentración de butírico ($p=0.0003$) en el contenido cecal el día 15 del período experimental. El incremento en la concentración de butírico puede utilizarse como un índice de maduración digestiva, y es considerado el principal sustrato energético de los colonocitos. La producción de butírico en el tracto digestivo posterior de los animales monogástricos se ha relacionado fundamentalmente con la fermentación de almidón y/o arabinoxilanos. No se observaron efectos significativos asociados al resto de tratamientos experimentales.

Figura 1. Concentración de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) totales (Fig. A) y de butírico (Fig. B) expresados en $\mu\text{moles/g MF}$ en digesta cecal el día 10 y 15 del período experimental.



CONCLUSIÓN

La inclusión de salvado en hoja (WB) en dietas destinadas a lechones recién destetados puede facilitar el desarrollo de una población microbiana digestiva con una menor presencia de enterobacterias, y con características de fermentación de un animal más maduro.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto CYCIT AGL2005-07438-C02-01(2006-2009).

BIBLIOGRAFIA

- Bikker,P.; Dirkzwager,A.; Fledderus,J.; Trevisi,P.; le Huerou-Luron,I.; Lalles,J.P.; Awati,A.. 2006. *Journal of Animal Science*. 84.12:3337-3345.
- Freire,J.P.B.; Peiniau,J.; Cunha,L.F.; Almeida,J.A.A.; Aumaitre,A. 2000. *Animal Feed Science and Technology*. 87:71-83.
- Hopwood,D.E.; Pethick,D.W.; Pluske,J.R.; Hampson,D.J. 2004. *British Journal of Nutrition*. 92:419-423.
- Montagne,L.; Cavaney,F.S.; Hampson,D.J.; Lalles,J.P.; Pluske,J.R.. 2004. *Journal of Animal Science*. 82.8:2364-2374.

EFFECTO DE DIETAS SUPLEMENTADAS CON ÁCIDOS ORGÁNICOS PROTEGIDOS Y NO PROTEGIDOS SOBRE LA FERMENTACIÓN INTESTINAL Y LA EXCRECIÓN DE *SALMONELLA* EN CERDOS AL FINAL DEL ENGORDE

dos Santos, J.¹, Creus E.¹, Pérez, J.F.¹, Mateu, E.², Martín-Orúe, S.M.¹

¹Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. susana.martin@uab.es

²Departament de Sanitat i Anatomia Animal,

Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Barcelona

INTRODUCCIÓN

La relevancia de la salmonelosis como zoonosis y el hecho de que los cerdos portadores que llegan a matadero, sean la principal fuente de contaminación de las canales, han promovido la necesidad de adopción de medidas de control para la salmonelosis porcina en los planes de salud pública europeos (Directiva 2003/99/CE y Reglamento CE nº 2160/2003). Entre las medidas de control, las estrategias alimentarias han sido propuestas como una herramienta eficaz para reducir el número de animales excretores (Dahl *et al.*, 1999). Algunas de estas propuestas probadas con éxito, han consistido en la inclusión de diferentes tipos de ácidos en la dieta de los animales, con reducciones importantes en los índices de seroprevalencia de los rebaños (Creus *et al.*, 2005) y en la excreción fecal del patógeno (van der Wolf *et al.*, 2001). La posibilidad de encapsular estos ácidos, promoviendo una mayor persistencia de los mismos a lo largo del tracto digestivo, podría ser una forma de mejorar la eficacia de estos productos teniendo en cuenta que la proliferación del patógeno y la invasión de tejidos se producen en tramos posteriores del intestino.

El trabajo presentado tiene por objeto comparar los efectos de una mezcla de láctico (0,4 %) y fórmico (0,4 %), que previamente había mostrado efectividad frente a *Salmonella* (Creus *et al.*, 2005), con la misma mezcla encapsulada ad hoc. a una dosis cercana a los niveles superiores de inclusión recomendados actualmente para acidificantes protegidos (0,14 % de cada ácido). El estudio incluye los efectos sobre el medio ambiente intestinal y la prevalencia de *Salmonella* sp en cerdos de engorde en condiciones comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en una granja comercial de ciclo cerrado en la población de Tona (Granja El Serrat). Se utilizaron 261 animales en fase final de engorde, organizados en tres salas de 8 corrales (10-11 animales/ corral). Se ofreció a los animales tres dietas experimentales granuladas: una dieta considerada como control con un 35% de trigo, 17% de soja 44 y 15% de maíz (CTR), una dieta similar a la control suplementada con 0,4% de ácido láctico y 0,4% de ácido fórmico (NPB) y una tercera dieta suplementada con la misma mezcla protegida (mediante su inclusión en una matriz lipídica) a una dosis final de 0,14% de cada uno de los ácidos (PB). La mezcla protegida fue fabricada de forma específica para este estudio en una planta piloto. Las raciones fueron administradas a voluntad durante un período de 36 días, durante los cuales se realizaron colectas de sangre (ELISA) y de heces (para cultivo microbiológico de *Salmonella* sp) en el día 0 y 35 del ensayo. Al final del experimento (día 36) 32 animales/tratamiento, cargados en un único camión, fueron sacrificados en matadero tras retirar el alimento por un periodo de 24 horas. En el matadero se recogieron muestras de sangre para serología, de heces para cultivo microbiológico, y del contenido cecal para determinación del pH, análisis de ácidos grasos volátiles (AGV), fórmico y láctico mediante CG (Jensen *et al.*, 1995). Los resultados se analizaron mediante el paquete estadístico SAS 9.1 (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los valores de pH y de concentración de fórmico, láctico y AGV en el ciego de los animales llevados a matadero. En relación al pH, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. Las concentraciones de ácido láctico y fórmico fueran mayores en los tratamientos NPB y PB que en el tratamiento control ($p = 0,01$

y $p < 0,0001$, respectivamente), lo que podría atribuirse a una persistencia de los ácidos añadidos en los piensos, aunque no puede descartarse su origen endógeno en la propia fermentación del alimento. En este sentido la concentración total de AGV fue mayor en la dieta PB que en las demás dietas ($p = 0,002$). En relación al perfil de la fermentación, la inclusión de los distintos ácidos provocó un incremento en el porcentaje de ácido acético ($p < 0,0001$), que fue mayor con la mezcla protegida (PB), mientras que la dieta control obtuvo un mayor porcentaje de ácido propiónico ($p = 0,0004$). El porcentaje de ácidos grasos volátiles ramificados fue menor en la dieta PB en relación a las dietas control y NPB ($p = 0,04$). Los cambios observados en la fermentación cecal, que fueron superiores con la mezcla protegida (PB), podrían reflejar un incremento de la cantidad de sustrato fermentable que llega al ciego por una reducción en la actividad microbiana en el intestino delgado por la acción directa de los ácidos.

En la tabla 2 se presenta la evolución de la seroprevalencia de *Salmonella* sp en los animales a lo largo del periodo experimental. La inclusión de ácidos no protegidos en los piensos consiguió una disminución significativa en el nivel de seroprevalencia de los animales (de 59,4 a 8,8%; $p < 0,0001$). Efectos similares han sido previamente descritos con la misma mezcla ácida (Creus *et al.*, 2005). En cuando a la mezcla protegida es difícil valorar de forma comparada sus efectos debido a las diferencias en seroprevalencia observadas entre grupos al día 0, en cualquier caso no pudieron detectarse diferencias significativas entre el día 0 y el día 36 para esta dieta.

En relación a la excreción de *Salmonella* sp, después de 35 días de tratamiento se observó un ligero descenso en los valores de excreción en heces (Tabla 3) que no llegó a ser significativo para ninguna dieta. El viaje a matadero provocó un incremento significativo en el número de animales excretores con la dieta CTR (12,5 vs. 77,4%) y también con la dieta PB (0 vs. 17,4%), pero no con la dieta NPB (0 vs. 3,3%). Las diferencias de excreción encontradas en matadero reflejaron las diferencias registradas en seroprevalencia entre las diferentes dietas a día 36.

A la luz de los resultados obtenidos podemos concluir que la inclusión de láctico y fórmico en los piensos, tanto en forma protegida como no protegida, es capaz de modificar la concentración de dichos ácidos a nivel cecal. La inclusión de fórmico (0,4%) y láctico (0,4%) durante las últimas 5 semanas de finalización, consiguió disminuir de forma significativa el número de animales seropositivos y reducir igualmente el incremento en la excreción de *Salmonella* sp ligado al estrés previo a matadero. La inclusión de la misma mezcla ácida protegida a dosis inferiores (0,14% + 0,14%) no consiguió reducir la prevalencia de *Salmonella*, pero sí que provocó un incremento importante en la concentración del total de AGV a nivel cecal y un mayor cambio en el perfil de fermentación, que podría apuntar a un efecto inhibitorio sobre la fermentación en intestino delgado con una mayor llegada de material fermentable a ciego. Serán necesarias más investigaciones para poder clarificar todos estos efectos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación pública del Proyecto AGL2003-08370-C02-01. Los autores desean igualmente agradecer a Pinosos Baucells S.A. su inestimable colaboración poniendo a disposición sus instalaciones para la fabricación de piensos y las naves de cebo. Agradecer también a Ramon Gatnau y Molimen la fabricación y cesión de la mezcla ácida protegida.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Creus, E., Pérez, J.F., Mateu, E. 2005. Effect of an acidified diet of *Salmonella* prevalence during the last term of fattening period. Proc. of the 6th Int. Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork. California, 287-288.
- Dahl, J., Joergensen, L., Wingstrand, A. 1999. An intervention study of the effect of implementing salmonella

controlling feeding strategies in salmonella-high prevalence herds. Proc.of the 3rd Int. Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork. Washington D.C. • Jensen, M.T., Cox, R.P., Jensen, B.B. 1995. Microbial-production of skatole in the hind gut of pigs given different diets and its relation to skatole deposition in backfat. An. Science. 61:293-304. • van der Wolf, P.J., van Schie F.W., Elbers A.R.W., Engel.B., van der Heijden, H.M, Hunneman W.A., Tielen M.J.M. 2001. Administration of acidified drinking water to finishing pig in order to prevent Salmonella infections. Vet. Q. 23:121-125. • SAS/STAT Version 9.1, User's guide, SAS Institute Inc. 2004. Cary, NC, USA

Tabla 1: pH, concentración (mM) de fórmico, de láctico, del total de ácidos grasos volátiles y el porcentaje de cada uno de ellos en el ciego de cerdos en fase final de engorde suplementados con ácido orgánico protegido y no protegido.

	Tratamiento			EEM ¹	p-valor
	CTR	NPB	PB		
pH	6,98	7,07	6,93	0,046	0,1207
Ácido Láctico (mM)	4,81 ^a	12,91 ^b	11,64 ^b	1,972	0,0110
Ácido Fórmico(mM)	2,02 ^a	3,27 ^b	4,01 ^b	0,273	<0,0001
Ác. Grasos Vol. (mM)	177 ^a	173 ^a	233 ^b	12,724	0,0022
Ácido Acético (%)	60,9 ^a	65,0 ^b	69,5 ^c	1,200	<0,0001
Ácido Propiónico (%)	26,0 ^a	20,5 ^b	18,7 ^b	1,270	0,0004
Ácido Butírico (%)	5,6	7,0	5,8	0,482	0,0934
Ácido Valérico (%)	3,1	3,1	2,7	0,197	0,1670
Ácidos Ramificados (%)	4,3 ^a	4,4 ^a	3,4 ^b	0,297	0,0354

¹EEM = Error estándar de la media.

^{a,b,c} medias con superíndices diferentes dentro de la misma fila son estadísticamente diferentes (p<0,05).

n = 20 animales por tratamiento.

Tabla 2: Efecto de administración de dietas suplementadas con ácidos orgánicos protegidos y no protegidos en la seroprevalencia de *Salmonella* sp en cerdos de engorde.

Día Muestreo	Tratamiento			p-valor
	CTR (%)	NPB (%)	PB (%)	
Día 0	84,4 ^a	59,4 ^{b,x}	18,8 ^c	<0,0001
Día 36	69,0 ^a	8,8 ^{b,y}	28,6 ^c	<0,0001
p-valor	0,1529	<0,0001	0,3463	

^{a,b,c} medias con superíndices diferentes dentro de la misma fila son estadísticamente diferentes (p<0,05).

^{x,y} medias con superíndices diferentes dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes (p<0,05).

n = 30 animales por tratamiento.

Tabla 3: Efecto de la administración de dietas suplementadas con ácido orgánicos protegidos y no protegidos en la prevalencia de *Salmonella* sp en heces.

Día Muestreo	Tratamiento			p-valor
	CTR (%)	NPB (%)	PB (%)	
Día 0	18,8 ^x	6,3	3,1 ^x	0,0762
Día 35	12,5 ^{a,x}	0 ^b	0 ^{b,x}	0,0154
Día 36	77,4 ^{a,y}	3,3 ^b	17,4 ^{b,y}	<0,0001
p-valor	<0,0001	0,3632	0,0151	

^{a,b,c} medias con superíndices diferentes dentro de la misma fila son estadísticamente diferentes (p<0,05).

^{x,y} medias con superíndices diferentes dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes (p<0,05).

n = 30 animales por tratamiento.

EFFECTO DE LA GRASA DE LA DIETA SOBRE LA EXPRESIÓN DE GENES RELACIONADOS CON EL METABOLISMO LIPÍDICO DEL CERDO

Duran-Montgé, P.¹, Theil, P. K.², Lauridsen, C.², Esteve-García, E.¹

¹IRTA. Mas de Bover, Ctra. de Reus-EI Morell km. 3,8 E-43120 Constantí (Tarragona)

²Department of Animal Health, Welfare, and Nutrition, Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Foulum, Tjele, Denmark

Correo electrónico: enric.esteve@irta.es

INTRODUCCIÓN

La regulación del metabolismo de los ácidos grasos (AG) se da, entre otros, a través de cambios a nivel de transcripción, procesado del mRNA, estabilidad del mRNA o actividad de varios factores de transcripción. En este último caso, como la familia peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) (Lee *et al.*, 1995) y la sterol regulatory element binding proteins (SREBP1) (Kim y Spiegelman, 1996). Estos factores de transcripción regulan la expresión de diversos enzimas clave dentro las rutas metabólicas de los AG. En cerdos, el tejido adiposo es el principal órgano de síntesis de los AG (O'Hea y Leveille, 1969), pero hasta el momento sobre los efectos de los distintos AG de la dieta sobre la transcripción únicamente se han realizado estudios con cultivos celulares y cerdos destetados (Liu *et al.*, 2005; Hsu *et al.*, 2004). En especies donde el hígado es órgano primario de lipogénesis, los AG insaturados son más inhibitorios que los saturados, como es el caso de aves y roedores; en especies donde el tejido adiposo es el órgano principal, los AG saturados podrían ser tan potentes (o más) que los insaturados (Azain, 2004). Este estudio fue diseñado para estudiar el efecto de la composición de AG de la dieta sobre la transcripción de los genes involucrados en el metabolismo de la grasa en el hígado y tejido adiposo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas. 61 cerdas (Duroc ♂ x Landrace ♀) (62 ± 5 kg pv) fueron asignadas a uno de los 7 tratamientos, con 8 animales por tratamiento, en 3 series de 3, 3 y 2 cerdas por serie. Las siete dietas fueron formuladas de acuerdo a los requerimientos nutricionales de la NRC (1998). Los tratamientos se asignaron de forma aleatoria por peso y camada. Las seis dietas con un 10% de grasa fueron a base de cebada y soja, y la dieta semisintética se formuló para contener un nivel muy bajo de grasa (Tabla 1).

Las grasas utilizadas fueron: sebo, aceite de girasol alto-oleico, aceite de girasol, aceite de linaza, mezcla (55% sebo, 35% aceite girasol, 10% aceite de linaza) y una mezcla con aceite de pescado (40% aceite de pescado, 60% aceite de linaza). Para el estudio se tomaron muestras durante el sacrificio del hígado y grasa subcutánea del cuello que se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y posteriormente a -75°C.

Análisis. Las dietas se analizaron para determinar el contenido en materia seca (AOAC, 1990), proteína cruda (Dumas), energía (AOAC, 1990) y AG. Los AG se extrajeron según Folch *et al.* (1957) y se transmetilaron con BF₃ i KOH en metanol, posteriormente se cuantificaron por cromatografía de gases utilizando C19:0 como patrón interno (Tabla 2).

El mRNA se extrajo con TriReagent, y luego se adicionó BCP (Mol. Res. Cent., Cincinnati, Ohio 45212, USA) para separar el RNA y posteriormente se precipitó con isopropanol y purificó con etanol. La síntesis del cDNA se realizó mediante la transcriptasa inversa (Invitrogen, Taastrup, Denmark) siguiendo el protocolo del proveedor. El cDNA fue amplificado con TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Stockholm, Sweden) utilizando primers específicos para cada gen, siendo el marcaje del producto amplificado realizado mediante SYBR Green (SREBP-1 y PPAR- α) o sondas marcadas con carboxifluoresceína en el extremo 5' (ACACA, FASN, SCD, D6D y HPRT1). La HPRT1 se utilizó como control endógeno (housekeeping gene). Para evaluar las cantidades de mRNA se calculó el número de ciclos (Ct) por el que la curva logarítmica cruzaba un valor umbral calculado, y se utilizó para determinar un Δ Ct (Δ Ct=Ct gen - Ct housekeeping gene). Los valores de Δ Ct se analizaron por cada gen utilizando el procedimiento MIXED del SAS (tratamiento y series de animals, efectos fijos; camada x series efecto aleatorio).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Varios autores (Brown y Goldstein, 1997; Xu *et al.*, 2001) sugieren que la SREBP1c regula la expresión de diferentes genes lipogénicos. Experimentos *in vivo* con ratas (Xu *et al.*,

2002) y también en cerdos (Hsu *et al.*, 2004; Lui *et al.*, 2005) han demostrado que el aceite de pescado, rico en PUFAs de cadena larga, disminuye el contenido en mRNA de *SREBP1*. Al igual que estos experimentos, los animales alimentados con aceite de pescado mostraron los niveles más bajos de *SREBP1* mRNA (Tabla 3). Los contenidos en *ACACA* y *SCD* mRNA (niveles bajos en la dieta que contiene aceite de pescado) muestran un comportamiento parecido al de la *SREBP1*, sugiriendo una regulación de estos *SREBP1*.

La regulación de los contenidos en mRNA de los genes relacionados con la síntesis de AG siguió una pauta diferente al hígado. A diferencia del hígado, los cerdos alimentados con la dieta sin grasa presentaron una expresión más alta de los genes involucrados en la síntesis de esteárico: *acetil CoA carboxilasa* y *ácido graso sintasa* (*ACACA* y *FASN*) y también de un gen involucrado en la desaturación (*Stearoil CoA desaturasa*) (*SCD*). Estos resultados se ajustan al incremento de la lipogénesis observado por Smith *et al.* (1996) en cerdos alimentados con una dieta sin grasa comparado con cerdos alimentados con 10% de grasa. A diferencia de lo observado en el hígado, el contenido en mRNA de la *SREBP* no mostró diferencias entre tratamientos, lo cual se corresponde con lo observado por Liu *et al.* (2005). Los cerdos alimentados con sebo, dieta rica en AG saturados, presentó los niveles más bajos en *ACACA* y *FASN* mRNA, mientras que los cerdos alimentados con aceite de girasol presentó los valores más altos. Otros autores (Smith *et al.*, 1996; Allee *et al.*, 1971) también han observado una reducción en la lipogénesis en cerdos alimentados con dietas enriquecidas con grasas saturadas comparando con dietas ricas en grasas insaturadas lo cual podría ser relacionado con una menor digestibilidad de las grasas saturadas; en nuestro caso esta posible interferencia se resolvió fijando la cantidad de grasa de las dietas en función de su digestibilidad (Duran-Montgé *et al.*, 2007). *PPAR- α* no mostró ningún cambio en los contenidos de mRNA por el tipo de dieta, tanto en tejido adiposo como en hígado.

Los resultados demuestran que la composición de la grasa de la dieta modifica la expresión de genes relacionados con la lipogénesis, tanto en hígado como en tejido adiposo. El tejido adiposo es el principal órgano de síntesis de AG en el cerdo y nuestros resultados sugieren que los efectos del tipo de grasa de la dieta en el hígado son distintos. Los AG saturados, comparados con otras fuentes de grasa, reducen la expresión de la *FASN*, *ACACA* y la *SCD* en el tejido adiposo.

Tabla 1. Composición de la dieta

	Sin Grasa	Sebo	Girasol alto-oleico	Aceite Girasol	Aceite Linaza	Mezcla	Aceite Pescado
<i>Formulación de la dieta (%)</i>							
Almidón de trigo	70.0						
Aislado de proteína de soja	14.0						
Pulpa de remolacha	10.1						
Melaza	4						
Cebada		62.5	64.2	63.7	64.1	63.8	63.7
Soja 44%		24.1	23.7	23.8	23.7	23.8	23.8
Sebo		10.97				5.45	
Aceite de girasol alto-oleico			9.58				
Aceite de girasol				9.97		3.47	
Aceite de linaza					9.68	0.99	5.80
Aceite de pescado							3.87
Carbonato cálcico	1.08	1.6	1.61	1.61	1.61	1.61	1.91
Complejo vitamínico/mineral ^a	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
Fosfato dicálcico	0.2	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
Cloruro sódico	0.15	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
L-lisina- HCl		0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
DL- metionina	0.04						
<i>Nutrientes y energía</i>							
Materia seca (%)	88.8	90.5	90.4	90.4	90.4	90.4	90.4
Proteína cruda (Nx6.25) (%)	14.1	15.6	15.1	15.5	15.9	15.8	16.1
Proteína cruda digerida (%) ^b	11.1	11.8	11.4	11.7	11.6	11.3	11.6
EB ^c (Kcal Kg-1)	3.56	4.47	4.50	4.54	4.46	4.54	4.46

^a Corrector vitamínico-mineral por kg de pienso: Vitamina A: 5000 UI; Vitamina D₃: 1000 UI; Vitamina E: 15 mg; Vitamina B₁: 1,3 mg; Vitamina B₂: 3,5 mg; Vitamina B₁₂: 0.025 mg; Vitamina B₆: 1,5 mg; Pantotenato cálcico: 10 mg; Ácido nicotínico: 15 mg; Biotina: 0,1 mg; Ácido fólico: 0,6 mg; Vitamina K₃: 2 mg; Fe: 80 mg; Cu: 6 mg; Co: 0,75 mg; Zn: 60 mg; Mn: 30 mg; I: 0,75 mg; Se: 0,10 mg; Etoxiquin: 150 mg.

^bProteína bruta digerida fué obtenida de un experimento de digestibilidad fecal de proteína (Duran-Montgé *et al.* in press 2007)

^cEB=Energía bruta

Tabla 2. Contenido en ácidos grasos (mg g⁻¹ dieta)

	Sin Grasa	Sebo	Girasol alto-oleico	Aceite Girasol	Aceite Linaza	Mezcla	Aceite Pescado
C16:0	0.48	28.70	7.87	11.22	8.21	19.96	12.95
C16:1	0.00	2.37	0.19	0.11	0.08	1.35	1.81
C18:0	0.14	22.85	4.25	5.56	3.64	12.79	4.07
C18:1(n-9)	0.56	34.76	86.78	32.52	20.74	29.53	18.99
C18:2(n-6)	1.38	14.20	21.50	73.28	26.18	26.04	21.49
C18:3(n-3)	0.18	1.90	1.29	1.26	47.10	18.94	31.20
C20:5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	3.88
C22:6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	12.30
Suma de AG	2.9	116.8	125.6	128.0	108.1	115.4	114.7

AG: Ácidos grasos,

Tabla 3. Efecto de la dieta sobre el contenido relativo de mRNA de genes relacionados con el metabolismo lipídico en hígado y tejido adiposo (mg g⁻¹muestra)*

	Sin Grasa	Sebo	Girasol alto-oleico	Aceite Girasol	Aceite Linaza	Mezcla	Aceite Pescado	P
<i>Hígado</i>								
ACACA	1.0 ^{bc}	1.00 ^{bc}	1.49 ^a	1.16 ^{ab}	1.07 ^{bc}	1.03 ^{bc}	0.85 ^c	0.014
FASN	1.0	0.72	1.15	1.20	0.69	0.87	0.49	0.25
SREBP1	1.0 ^c	1.31 ^{bc}	2.06 ^a	1.52 ^{abc}	1.46 ^{abc}	1.09 ^c	0.61 ^d	0.0002
PPAR	1.0	1.06	1.03	0.88	1.06	0.91	0.86	0.86
SCD	1.0 ^{cd}	1.56 ^{bc}	2.89 ^a	2.22 ^{ab}	1.80 ^{abc}	1.16 ^{cd}	0.64 ^d	0.0004
D6D	1.0	1.52	1.52	2.00	1.04	0.95	0.70	0.11
<i>Tejido adiposo</i>								
ACACA	1.0 ^a	0.65 ^d	0.66 ^{cd}	0.84 ^{ab}	0.84 ^{abc}	0.75 ^{bcd}	0.69 ^{bcd}	0.0049
FASN	1.0 ^a	0.30 ^d	0.39 ^{bcd}	0.53 ^b	0.33 ^{cd}	0.38 ^{bcd}	0.42 ^{bcd}	<0.0001
SREBP1	1.0	0.83	0.94	0.93	0.91	1.08	0.85	0.70
PPAR	1.0	1.08	1.16	1.13	1.01	0.94	0.96	0.79
SCD	1.0 ^a	0.43 ^b	0.41 ^{bc}	0.54 ^b	0.22 ^c	0.43 ^b	0.38 ^{bc}	0.0031
D6D	1.0	1.17	1.28	1.15	1.20	0.96	1.04	0.86

*El contenido en mRNA es relativo al contenido de la dieta Sin Grasa.

Acetil CoA carboxilasa α (ACACA), Ácido Graso sintasa (FASN), sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP1), peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR- α), esteroil CoA desaturasa (SCD), Δ 6-desaturasa (D6D), HPRT1: Hipoxantina fosforibosiltransferasa

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allee, G.L. *et al.* 1971 *Journal of Animal Science* 33(6): p. 1248.
- Azain, M.J. 2004. *Journal of Animal Science* 82: p. 916-924.
- Brown, M.S. y J.L. Goldstein. 1997. *Cell* 89(3): p. 331-340.
- Duran-Montgé, P. *et al.* 2007. *Livestock Science*.
- Folch, J. *et al.* 1957. *Journal of biological chemistry* 226(1): p. 497-509.
- Hsu, J.M. *et al.* 2004. *Journal of Animal Science* 82(3): p. 683-689.
- Kim, J.B. y B.M. Spiegelman. 1996. *Genes & Development* 10(9): p. 1096-1107.
- Lee, S.S.T. *et al.* 1995. *Molecular and Cellular Biology* 15(6): p. 3012-3022.
- Liu, B.H. *et al.* 2005. *Journal of Animal Science* 83: p. 1516-1525.
- Liu, B.H. *et al.* 2005. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 18(10): p. 1451-1456.
- O'Hea, E.K. y G.A. Leveille. 1969. *Journal of Nutrition* 99(3): p. 338.
- Smith, D.R. *et al.* 1996. *Journal of Animal Science* 74: p. 975-983.
- Xu, J. *et al.* 2001. *Journal of Biological Chemistry* 276(13): p. 9800-9807.
- Xu, J. *et al.* 2002. *Journal of Nutrition* 132(11): p. 3333-3339.

Efecto de la alimentación con materias grasas recicladas sobre parámetros productivos y el rendimiento a la canal de pollos de carne

Choque-López, J.A., Baucells, M.D., Mateus E.F., Gómez de Segura, A., Barroeta, A.C.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. Barcelona
josealfredo.choque@uab.es; ana.barroeta@uab.cat

INTRODUCCIÓN

El principal interés de incorporar materias grasas en la alimentación animal viene determinado por ser una fuente concentrada de energía a precio competitivo. Además, las materias grasas son una fuente de ácidos grasos esenciales y ayudan a la absorción de vitaminas liposolubles y otros nutrientes no lipídicos, (Ziggers, 2005; NRC, 1994).

Sin embargo, las materias grasas que utilizamos pueden tener distinta procedencia y una composición muy variable. Algunas de ellas son co- o sub-productos de la cadena alimentaria y presentan un contenido nada despreciable de sustancias perjudiciales como son la presencia de ácidos grasos *trans*, y dioxinas o compuestos co-planares, entre otros. Se ha demostrado que estos compuestos químicos pueden ser transferidos al producto final (Kim *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 1989), es decir a la carne y pueden tener implicaciones negativas en el consumidor. Es importante demostrar, que la utilización de materias grasas recicladas con niveles de contaminación permitidos por la normativa vigente (Directiva 2006/13/CE, 2006), es inocua y segura para el consumidor pero también para el animal, sin provocar mermas en los índices productivos.

El presente trabajo resume cuatro experimentos cuyo objetivo fue evaluar el efecto de la incorporación en la dieta, de materias grasas recicladas con diferente contenido de ácidos grasos *trans* (T), dioxinas y PCBs (C), hidrocarburos aromáticos Policíclicos, PAHs (P) y productos de oxidación (O), sobre los parámetros productivos y de rendimiento de la canal de pollos de carne.

MATERIAL Y METODOS

En cada experimento se emplearon 64 pollos hembra de la estirpe ROSS 308, alojadas en 16 jaulas (8 replicas/tratamiento; 4 aves/jaula).

Los tratamientos dietéticos fueron elaborados en la planta de fabricación de la Universidad Politécnica de Valencia sobre una ración base constituida de maíz y soja, suplementada con un 6 % de la grasa reciclada y se diferenciaban según el nivel de alteración alto (H) y bajo (L). De esta manera, los cuatro experimentos contenían los siguientes niveles de alteración o contaminación: Ácidos grasos *trans* (HT=10,01 % y LT=0,14 %); dioxinas y PCBs (HC=1,75 pg y LC=0,59 pg TEQ/g PCDD/Fs+DL-PCBs de aceite); hidrocarburos aromáticos policíclicos (HP=5,291 µg/g y LP<2 µg/g de aceite) y productos de oxidación (HO=1,7 meq valor de peróxidos (VP)/kg con 67,43 p-anisidine y LO=5.3 meq VP/kg de aceite con 2,74 p-anisidine).

El período experimental estaba comprendido entre 7 y 47 días de vida de las aves y se evaluaron los parámetros productivos de ganancia media diaria (GMD), consumo medio diario (CMD), índice de transformación (IT), peso medio final al momento del sacrificio (PVF), rendimiento de la canal (RC%) y grasa abdominal depositada (GA=% sobre el peso de la canal).

El análisis estadístico de los datos se realizó con la ayuda del programa SAS 9.1.3 (2003) utilizando el procedimiento GLM y la comparación de medias con la prueba de Tukey-Kramer, considerando a la jaula como unidad experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros productivos.- Los resultados de la evaluación de los parámetros productivos, realizada para los cuatro experimentos, se presentan en la Tabla 1.

Con relación al experimento T, los animales que consumieron el tratamiento LT, presentaron una mayor GMD ($P=0.005$) y un menor IT ($P=0.004$), respecto a los animales del tratamiento HT. Estudios realizados en ratones (Atal *et al.*, 1994) muestran una clara depresión de la ganancia de peso en animales alimentados con dietas ricas en AG *trans* (12 %), el hecho de que la grasa del tratamiento HT tuviera un grado de saturación superior a la LT (HT: 84,8 y LT: 54,1 % AGS), contribuye también a dicha respuesta. Ninguno de los parámetros estudiados en los otros experimentos, presentaron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo las diferencias numéricas observadas entre los experimentos T y C por una parte y los experimentos P y O por otra, sugieren un mejor comportamiento productivo para los dos primeros experimentos que los dos últimos. La asociación en la comparativa de los experimentos se fundamenta en el hecho de que los primeros experimentos fueron realizados en invierno y los otros dos entre final de primavera y principios del verano. En consecuencia, los valores más bajos observados en los últimos experimentos estarían asociados a una influencia de la temperatura, más que al tipo de alteración dietética presente en cada uno de los experimentos.

Los niveles de contaminación de los aceites utilizados estaban próximos a los establecidos por la UE de: 0.75 pg TEQ/g PCDD/Fs OMS y 1.5 pg TEQ/g PCDD/Fs+DL-PCBs OMS (Directiva 2006/13/CE, 2006), para el caso de dioxinas y PCBs. En el caso de PAHs no existe una normativa establecida. Respecto a los niveles de oxidación empleados, estos no superaron los utilizados por otros autores (Wang *et al.*, 1997; Choque-López J.A. *et al.*, 2005) de entre ≤ 0.8 meq/Kg y ≥ 11 meq/kg de aceite, sin que tampoco se observaran diferencias en los parámetros productivos analizados.

Tabla 1. Resultados productivos del empleo en la dieta de materias grasas recicladas (presencia de compuestos alterados o contaminantes en dos niveles) en pollos de carne a los 47 días de vida

Exp	Param	H	L	RSD	P
AG Trans (T)	CMD (g/ave)	112,77	114,01	3,74	0,680
	GMD (g/ave)	58,33	62,36	2,29	0,005
	IT	1,94	1,83	0,06	0,004
Diox-PCBs (C)	CMD (g/ave)	119,91	117,58	15,31	0,498
	GMD (g/ave)	64,31	61,47	3,73	0,150
	IT	1,88	1,86	0,15	0,969
PAHs (P)	CMD (g/ave)	99,49	97,88	7,49	0,675
	GMD (g/ave)	58,38	58,52	1,84	0,874
	IT	1,70	1,67	0,08	0,506
Oxidados (O)	CMD (g/ave)	95,38	99,50	6,86	0,250
	GMD (g/ave)	50,73	52,25	3,60	0,411
	IT	1,88	1,90	0,06	0,460

n=32 aves por tratamiento en cada experimento; H=nivel alto; L=nivel bajo

CMD=consumo medio diario; GMD=ganancia media diaria; IT=índice de transformación

Rendimiento de la canal y depósito de grasa abdominal.- La Figura 1, presenta los resultados de la evaluación de los rendimientos de los cuatro experimentos. En el caso del experimento T, tanto el PVF ($P= 0.004$) como la GA ($P= 0.056$) del tratamiento LT, presentaron diferencias estadísticas significativas, en comparación al tratamiento HT. La composición en AG (mayor proporción de AG saturados) en HT, de nuevo, muestra un efecto negativo sobre el rendimiento y la deposición de grasa. Entre los resultados del experimento C, solo el rendimiento de la canal (RC) del tratamiento HC ($P=0.002$) fue estadísticamente superior a el tratamiento LC. Esta diferencia podría atribuirse a un relativamente mayor peso al sacrificio, observado para este tratamiento. No se observaron

diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros estudiados en los experimentos P y O.

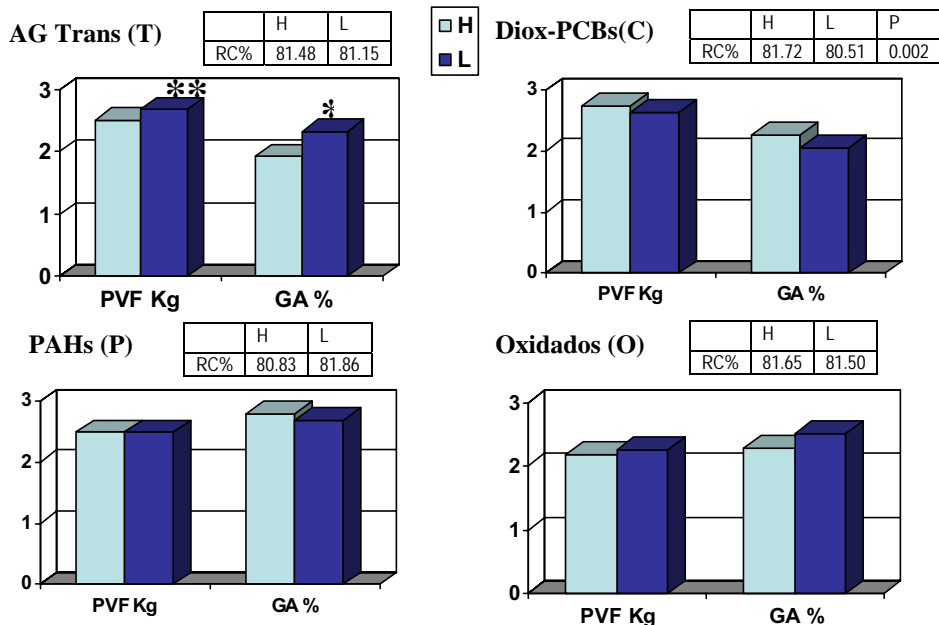


Fig 1. Parámetros de rendimiento de los cuatro experimentos: PVF=peso final al momento del sacrificio (Kg/ave); GA=% grasa abdominal depositada; RC=rendimiento de la canal; H=nivel alto; L= nivel bajo; **: P<0,01 *; P<0.1

CONCLUSIONES

En general, dioxinas y PCBs, PAHs y productos de oxidación en la ración a los niveles de alteración estudiados, no tienen efecto sobre parámetros de rendimiento y productividad en pollos de carne. Sin embargo, un elevado nivel de AG Trans, asociado a una mayor proporción de AG saturados, disminuye la respuesta productiva de pollos de carne.

RECONOCIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del proyecto "Feeding Fats Safety" (Food-ct-2004-007020) y a la concesión de una beca predoctoral, Becas MAE-AECI.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Atal, S., Zarnowski M.J., Cushman S.W., Sampugna J. 1994. *Lipids* 29 (5): 319-325.
- Choque-López J.A., Manzanilla E.G., Gomez de Segura A., Baucells M.D., Barroeta A.C. 2005. *Poultry Science Symposium Series* 28: 384.
- Directiva 2006/13/CE 2006. *Com. UE* 32: 44-53.
- Kim, M.K., Kim, S.Y., Yun, S.J., Lee, M.H., Cho, B.H., Park, J.M., Son, S.W., Kim, O.K. 2004. *Chemosphere* 54 (10): 1533-1538.
- Lin, C.F., Asghar, A., Gray, J.I., Buckley, D.J., Booren, A.M., Crackel, R.L., Flegal, C.J. 1989. *Br. Poult. Sci.* 30 (4): 855-864.
- NRC 1994. *National Research Council* 10th Revised Ed.
- Wang, S.Y., Bottje, W., Maynard, P., Dibner, J., Shermer, W. 1997. *Poult. Sci.* 76 (7): 961-967.
- Ziggers, D. 2005. *Feed Tech.* 1: 16-19.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DESTILADOS DE PALMA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LA CALIDAD DE LA CANAL DEL POLLO BROILER

Sánchez¹, J., Díaz², D, Gutiérrez³, A., Gracia¹, M.I.

¹Imasde Agropecuaria, S.L., C/ Nápoles 3, 28224 Pozuelo de Alarcón (Madrid).

²Norel, S.A., C/ Jesús Aprendiz 19, 1º A y B, 28007 (Madrid).

³Nutreco PRRC, Ctra. CM-4004, km 10,5. 45950, Casarubios del Monte (Toledo).

jsanchezlaguna@e-imasde.com

INTRODUCCIÓN

Los elevados requerimientos energéticos de los pollos broiler implican la necesidad de incluir altos niveles de grasa en las dietas. La utilización de grasas vegetales insaturadas implica ventajas de tipo nutricional frente a las grasas animales (Mateos *et al.*, 1996), pero el mayor grado de insaturación puede incidir sobre las características de la canal de los pollos por la relación entre el perfil lipídico de la dieta y la grasa depositada (Barroeta y Cortinas, 2002). Una alternativa vegetal con menor grado de insaturación son los ácidos grasos destilados de palma (palm fatty acid distiller's, PFAD), con un perfil similar al de la manteca (Sánchez *et al.*, 2002). Sin embargo, es necesario valorar las posibilidades de uso de los PFAD en avicultura, tanto desde un punto de vista nutricional dado que están compuestos por ácidos grasos libres, en vez de por triglicéridos, como desde un punto de vista de la calidad de la canal por un impacto en la composición de la grasa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 1.170 pollos Ross (50% machos y 50% hembras) de 1 d de edad alojados al azar por sexos. De 0 a 21 d se utilizó una dieta común con aceite de soja como fuente de grasa (2.975 kcal EMA/kg). De 22 a 42 d hubo 3 tratamientos en función del tipo de grasa: 5% de aceite de soja, más un 3% adicional de aceite de soja (control), sustituido isonutritivamente por PFAD al 0, 50 y 100%, para T1, T2 y T3, respectivamente. Cada tratamiento se replicó 10 veces y cada réplica estuvo formada por 39 pollos alojados conjuntamente. Todas las dietas (Tabla 1) se presentaron en gránulo y se administraron *ad libitum*, cubriendo los requerimientos del NRC (1994) para pollos de estas edades. Se analizó la proteína bruta, el extracto etéreo, la materia seca y las cenizas siguiendo los métodos 976.05, 920.39, 934.01 y 967.05 de AOAC (2000). La prueba se llevó a cabo en las instalaciones de NUTRECO PRRC.

Durante la prueba se midió la productividad a 21 y 42 d de edad. Tras el sacrificio y desangrado de los animales se seleccionaron al azar cuatro animales por réplica (50% machos y 50% hembras) para determinar el rendimiento de pechuga, alas, y muslos. Asimismo, se analizó el perfil de ácidos grasos de la grasa abdominal de 2 animales por réplica seleccionados al azar (50% machos y 50% hembras), mediante el procedimiento descrito por Marmor y Maxwell (1981).

Los datos se analizaron por el procedimiento GLM de SAS v. 6.12 (SAS Institute, 1990) para diseños al azar. El modelo incluyó el tipo de dieta como efecto principal y el sexo y su interacción como efectos fijos. En el caso de los rendimientos en matadero se incluyó el peso vivo de los animales a 42 días como covariable, y los datos se expresan como medias corregidas por mínimos cuadrados. Asimismo se realizaron 2 contrastes ortogonales: control vs inclusión de PFAD y nivel de PFAD.

Tabla 1. Dietas experimentales (PFAD: ácidos grasos destilados de palma).

Ingredientes, %	Inicio (0-21 d)	Cebo (22-42 d)		
	Dieta común (T1, T2 y T3)	T1	T2	T3
Maíz	10,7	14,0	13,0	12,6
Cebada	16,0	12,5	13,0	13,0
Trigo	30,0	30,0	30,0	30,0
Hna. Soja 47,5	34,6	31,6	31,7	31,8
Aceite soja	4,8	8,0	6,5	5,0
PFAD	--	--	1,9	3,8
Otros ¹	3,9	3,9	3,9	3,9
Análisis calculado²				
EMA, kcal/kg	2.975	3.200	3.200	3.200
Análisis químico				
Humedad, %	10,0	10,5	10,5	10,3
EE, %	6,8	9,6	9,9	10,1
PB, %	22,7	20,9	21,1	21,1
Cenizas	5,3	5,4	5,3	5,4
Perfil Ácidos Grasos calculado²				
C16:0, %	0,68	1,00	1,71	2,42
C18:0, %	0,23	0,37	0,40	0,42
C18:1, %	1,36	2,09	2,51	2,93
C18:2, %	3,29	5,00	4,37	3,75

¹ Incluye cloruro sódico, fosfato bicálcico, carbonato cálcico, DL-metionina, L-lisina y corrector vitamínico-mineral.

El corrector suministra por kg de dieta: 10.000 UI de Vit. A, 2.000 UI de Vit. D₃, 20 mg de Vit. E, 2 mg de Vit. B₁, 8 mg de Vit. B₂, 1,5 mg de Vit. B₆, 10 µg de Vit. B₁₂, 3 mg de Vit. K, 15 mg de D-Pantotenato, 1,0 mg de Ac. Fólico, 50 mg de Niacina, 0,10 mg de Biotina, 250 mg de Cloruro de colina, 0,2 mg de Co, 8 mg de Cu, 20 mg de Fe, 80 mg de Mn, 59,2 mg de Zn, 0,25 mg de Se, 2 mg de I, 100 mg de B.H.A.+ Etoxiquin, 890 mg de Betaina.

² Análisis calculado según las Tablas FEDNA (2003) de composición de materias primas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del tipo de grasa sobre la productividad y sobre el perfil de ácidos grasos se muestra en la Tabla 2. La utilización de PFAD no modificó ningún parámetro zootécnico, ni la mortalidad ni el rendimiento de las canales o piezas nobles. Sin embargo, la inclusión de PFAD en la dieta aumentó el porcentaje de C16:0 y C18:1 (18,8, 21,1 y 21,2 y 31,5, 33,8 y 35,3 % para T1, T2 y T3, respectivamente, $P < 0,05$) y redujo el porcentaje de C18:2 y C18:3 (34,6, 30,0 y 28,0 y 3,1, 2,6 y 2,2 % para T1, T2 y T3, respectivamente, $P < 0,05$). Por tanto, la inclusión de PFAD incrementó los ácidos grasos saturados o monoinsaturados, y redujo los poliinsaturados ($P < 0,05$).

Se concluye que la sustitución parcial e isonutritiva de aceite de soja por PFAD en dietas de cebo no tiene un impacto productivo, ni en el rendimiento de la canal ni de piezas nobles, pero mejora significativamente el perfil de ácidos grasos disminuyendo los poliinsaturados y aumentando los saturados o monoinsaturados, lo que puede tener un fuerte impacto en el punto de fusión y en la capacidad de oxidación de la grasa.

Tabla 2. Efecto del nivel de inclusión de PFAD como fuente de grasa adicional (al sustituir un 3% de aceite de soja al 0, 50 y 100%) sobre el peso vivo, consumo medio diario (CMD), ganancia media diaria (GMD), índice de conversión (IC,) y perfil de ácidos grasos de la grasa abdominal.

Tratamientos		1	2	3	CV, %	Pr > F	Contrastes	
Parámetros		PFAD, % sustitución					Control vs PFAD	PFAD (50% vs 100%)
		0	50	100				
Peso	0 d, g	42,66	41,86	42,46	2,04	0,118	0,145	0,134
	21 d, g	860,7	845,8	853,3	2,94	0,428	0,263	0,511
	42 d, g	2.704	2.728	2.719	2,05	0,625	0,374	0,713
22-42 d	CMD, g	162,6	165,0	164,9	2,17	0,277	0,113	0,957
	GMD, g	87,76	89,62	88,82	2,21	0,126	0,067	0,372
	IC, g/g	1,858	1,847	1,860	1,38	0,495	0,697	0,267
0-42 d	CMD, g	106,7	108,0	107,7	2,04	0,420	0,207	0,735
	GMD, g	63,36	63,95	63,72	2,07	0,604	0,360	0,694
	IC, g/g	1,687	1,692	1,692	1,08	0,777	0,486	0,923
Perfil de ácidos grasos de la grasa abdominal, %								
C16:0		18,82 ^b	21,10 ^{ab}	21,16 ^a	17,48	0,079	0,025	0,958
C16:1		2,60	3,08	3,07	36,66	0,294	0,119	0,989
C18:0		5,57	5,52	5,23	10,06	0,121	0,208	0,106
C18:1		31,49 ^b	33,75 ^a	35,26 ^a	7,90	<0,001	<0,001	0,081
C18:2		34,62 ^a	30,03 ^b	27,99 ^b	15,62	<0,001	<0,001	0,191
C18:3		3,05 ^a	2,59 ^b	2,24 ^c	19,38	<0,001	<0,001	0,036
Saturados ¹		25,11 ^b	27,50 ^a	27,44 ^{ab}	13,59	0,078	0,024	0,960
Monoinsaturados ¹		36,51 ^b	39,26 ^{ab}	41,75 ^a	10,92	0,002	0,002	0,077
Poliinsaturados ¹		38,38 ^a	33,24 ^b	30,81 ^b	15,72	<0,001	<0,001	0,164

¹ Saturados: incluye C10:0, C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0 y C20:0; Monoinsaturados: C15:1, C16:1, C17:1, C18:1 y C20:1; Poliinsaturados: incluye C18:2, C18:3, C18:4, C20:3, C20:4, C22:5 y C22:6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, EE.UU.
- Barroeta, A.C., Cortinas, L., 2002. Modificación de la composición de la grasa de pollo a través de la dieta. Seminario internacional: Estrategias para la producción de carnes con material lipídico más saludable. Instituto de Ciencia y Tecnología de la Carne. Universidad Complutense de Madrid, España.
- FEDNA, 2003. Normas de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal para la formulación de piensos compuestos (2^a ed). C. de Blas, P. García, y G.G. Mateos. (Eds.) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. España.
- Marmor, W.N., Maxwell, R.J., 1981. Dry column method for the quantitative extraction and simultaneous class separation of lipids from muscle tissue. *Lipids* 16: 365-371.
- Mateos, G.G., García, P., Medel, P., 1996. Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: grasas puras y mezclas. En: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Ed: Rebollar, P.G., Mateos, G.G. y De Blas, C. FEDNA. Madrid. pp: 1-21.
- NRC (1994). Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. Ed. National Academy Press, Washington DC, EE.UU.
- Sánchez, J., Gracia, M.I., Medel, P., 2002. Utilización de grasas protegidas en monogástricos. Nuestra Cabaña 321: 36-45.
- SAS Institute, 1990. SAS User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC, EE.UU.
- Ensayo ejecutado dentro de un Proyecto de Investigación Industrial Concertado financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI 2003-0002).**

EFFECTO DE LA FUENTE Y TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LA FIBRA SOBRE LOS PARÁMETROS DIGESTIVOS Y PRODUCTIVOS EN POLLITOS DE ENGORDE DE 1 A 21 DÍAS DE EDAD

González-Alvarado, J.M.¹, Jiménez-Moreno, E.¹, González-Sánchez, D.¹, de Coca-Sinova, A.^{1,2}, Lázaro, R.¹, Mateos, G.G.¹

¹Universidad Politécnica de Madrid, España. Correo electrónico: gonzalo.gmateos@upm.es

² Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, España

INTRODUCCIÓN

La restricción en el uso de promotores de crecimiento tipo antibiótico en la dieta (UE – 25) obliga al sector avícola a buscar nuevas alternativas alimenticias para reducir los problemas entéricos que han surgido en condiciones de campo (Mateos *et al.*, 2002). La inclusión de diferentes fuentes de fibra así como el tamaño de partícula de las mismas son algunas de las estrategias a estudiar a este particular.

MATERIAL Y MÉTODOS

La dieta control se formuló en base a un 58% de arroz partido, 22% de concentrado proteico de soja, 5% de grasa animal, 7% de harina de pescado, 3% de sepiolita y 2% de celite; y contenía 3.095 kcal EMA_n/kg y 1,17 % de lisina digestible. Las fuentes de fibra fueron incluidas en sustitución de la sepiolita. El diseño fue completamente al azar con 6 tratamientos experimentales constituidos por una dieta control sin fibra adicional, cuatro piensos resultantes de la combinación factorial de dos fuentes de fibra (cascarilla de avena; CA y pulpa de remolacha; PR), molidas a dos tamaños (2 y 0,5 mm) y un sexto pienso que incluía una fuente sintética de celulosa microcristalina (CEL). El tamaño medio de partícula de las dietas fueron 472 y 567 µm para la dieta sin fibra adicional y con CEL, 771 y 643 µm para las dietas con CA molida a 2 y 0,5 mm; y, 682 y 599 µm para las dietas con PR molida a 2 y 0,5 mm, respectivamente. Cada tratamiento se replicó cinco veces (una jaula con 14 pollitos). Los controles de peso (GMD) y consumo de pienso (CMD) se realizaron a 0 y 21 días de edad y se colectaron heces a 17 d de edad para determinar la digestibilidad fecal de los nutrientes y la energía metabolizable aparente de las dietas a través del método del marcador indigestible (Van Keulen y Young, 1975). Se determinó el contenido de materia seca (MS), materia orgánica (MO), nitrógeno (N), extracto etéreo (EE) según describe AOAC (2000). El día 21, 3 aves de cada jaula fueron sacrificadas para medir el tamaño relativo, el llenado y materia seca de la digesta y pH de la molleja. La media de las 3 aves por jaula fue considerada como la unidad experimental para las variables de la molleja. Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (1990) para diseños completamente al azar. Para estudiar las diferencias entre tratamientos debidas a la inclusión de fibra y al tamaño de partícula de la misma se realizaron dos comparaciones: 1) el efecto de la inclusión de fibra se analizó mediante un test de Duncan considerando sólo 4 de los 6 tratamientos (control, inclusión de celulosa, cascarilla avena y pulpa de remolacha molidas a 0,5 mm); y, 2) el efecto principal tipo y el tamaño de partícula de la fibra, y su interacción, fueron estudiadas considerando sólo cuatro dietas (dos fuentes de fibra; CA y PR, molidas a dos tamaños de partícula; 2 y 0,5 mm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, la inclusión de fibra en la dieta incrementó la GMD y mejoró la conversión alimenticia, pero no afectó al CMD de los pollitos de 0 a 21 días de edad (Tabla 1). Los pollitos alimentados con CA crecieron más que los pollitos alimentados con PR, mostrando una situación intermedia aquellos que fueron alimentados con CEL. El tipo de fuente de fibra incluida en la dieta no afectó sobre la conversión alimenticia de los pollitos. El tamaño de partícula de la fibra no afectó a ninguno de los parámetros productivos estudiados. Tampoco se observó interacción alguna entre la fuente de fibra y tamaño de partícula.

En general, la inclusión de fibra mejoró la digestibilidad de todos los nutrientes. Los mayores incrementos de digestibilidad se obtuvieron al incluir CA en la dieta, excepto para el EE. La digestibilidad del EE de los pollitos alimentados con CEL fue similar que en los pollitos alimentados con CA. El tamaño de partícula de la fibra no afectó a la digestibilidad de los nutrientes, excepto para las cenizas solubles, cuya digestibilidad fue mayor para la

molienda fina que para la molienda gruesa ($P \leq 0,05$). No se observó interacción alguna sobre la digestibilidad de ninguno de los nutrientes estudiados.

La inclusión de fibra incrementó el tamaño y el llenado, pero redujo el pH de la digesta de la molleja (Tabla 2). Los mayores valores encontrados de tamaño y llenado de la molleja fueron al incluir CA en la dieta, mientras que las dietas con PR y con CEL mostraron una situación intermedia. Por otro lado, el contenido fresco de la molleja fue mayor en dietas basadas en PR que en aquellas basadas en CA o en CEL. La reducción de pH en la digesta de la molleja fue más evidente al incluir CA. El tamaño de partícula afectó a las variables estudiadas sobre la molleja, de tal forma que, la molienda grosera de la fibra incrementó el tamaño, el llenado y el contenido fresco de la molleja ($P \leq 0,05$), mientras que tendió a reducir el pH ($P = 0,077$) respecto a la molienda fina. Unas interacciones entre fuente de fibra y tamaño de partícula fueron observadas sobre el llenado y el contenido fresco de la molleja ($P \leq 0,01$); los efectos fueron más evidentes para los pollitos alimentados con PR que con los alimentados con CA.

Se concluye que la inclusión de fibra en dietas bajas en fibra mejora la productividad, la digestibilidad de los nutrientes y el tamaño de la molleja en pollos de engorde de 1 a 21 días de edad. En general, el tamaño de partícula de la fibra no afecta ni a la digestibilidad de los nutrientes ni a los parámetros productivos; sin embargo, incrementa el tamaño de la molleja. Por tanto, los pollitos jóvenes probablemente tengan unas necesidades mínimas de fibra en la dieta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• AOAC, 2000. Official Methods of Analysis (17^a ed). AOAC, Virginia, MD. • SAS Institute, 1990. SAS User's Guide. Versión 6, SAS Institute, Cary, N.C. • Van Keulen, J., y B. A. Young. 1977. J. Anim. Sci. 44:282-287. • Mateos G.G., R. Lázaro, y M. Gracia. 2002. J. Apl. Poult. Res. 11:437-452.

Tabla 1. Parámetros productivos de los pollitos de 0 a 21 días de edad

	GMD	CMD	IC
A. Cascarilla de avena gruesa (2 mm)	32,1	41,6	1,29
B. Cascarilla de avena fina (0,5 mm)	32,6	41,7	1,28
C. Pulpa de remolacha gruesa (2 mm)	30,6	39,3	1,29
D. Pulpa de remolacha fina (0,5 mm)	30,0	39,5	1,32
E. Celulosa microcristalina	31,8	42,0	1,33
F. Ausencia (sepiolita)	29,3	40,1	1,36
<i>Comparación 1¹</i>			
B. Cascarilla de avena fina (0,5 mm)	32,6 ^a	41,7	1,28 ^b
D. Pulpa de remolacha fina (0,5 mm)	30,0 ^{bc}	39,5	1,32 ^{ab}
E. Celulosa microcristalina	31,8 ^{ab}	42,0	1,33 ^{ab}
F. Ausencia (sepiolita)	29,3 ^c	40,1	1,36 ^a
EEM (n = 5) ²	0,69	0,96	0,017
<i>Comparación 2</i>			
Fuente de fibra			
Cascarilla de avena	32,4	41,6	1,28
Pulpa de remolacha	30,3	39,4	1,30
Tamaño de partícula			
Gruesa (2 mm)	31,4	40,4	1,29
Fina (0,5 mm)	31,3	40,6	1,30
EEM (n = 10) ²	0,50	0,58	0,011
Probabilidad de efectos ³			
Fuente de fibra (F)	**	*	NS
Tamaño de partícula (P)	NS	NS	NS
Interacción F × P	NS	NS	NS

¹ Las medias dentro de una misma columna que no comparten letras en el superíndice son diferentes ² EEM = Error estándar de la media (n = número de réplicas/ tratamiento); ³ NS = no significativo; † $P \leq 0,1$; * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$

Tabla 2. Digestibilidad aparente fecal de los nutrientes, retención aparente nitrogenada y EMA_n de pollitos a 17 días y, parámetros digestivos a 21 días de edad

	Digestibilidad de los nutrientes a 17 d					Molleja a 21 d				
	MS	MO	CS ¹	N	EE	EMA_n	Peso	Llen.	MS	pH
			----- % -----			Kcal/kg	% PV	----- % -----		
A. Cascarilla de avena gruesa (2 mm)	78,1	82,4	42,7	67,1	83,7	3.209	1,74	33,4	42,4	3,06
B. Cascarilla de avena fina (0,5 mm)	79,9	83,8	49,7	68,5	85,8	3.246	1,53	34,6	41,7	3,09
C. Pulpa de remolacha gruesa (2 mm)	76,0	80,4	39,6	62,5	82,4	3.141	1,42	47,8	24,3	2,88
D. Pulpa de remolacha fina (0,5 mm)	76,5	80,7	41,2	64,2	80,2	3.124	1,23	28,9	33,1	3,32
E. Celulosa microcristalina	75,1	79,0	38,6	63,8	86,2	3.082	1,11	26,6	46,9	3,63
F. Ausencia (sepiolita)	75,5	81,8	31,0	63,3	79,8	3.082	1,04	24,3	44,2	3,81
<i>Comparación 1²</i>										
B. Cascarilla de avena fina (0,5 mm)	79,9 ^a	83,8 ^a	49,7 ^a	68,5 ^a	85,8 ^a	3.246 ^a	1,53 ^a	34,6 ^a	41,7 ^a	3,09 ^c
D. Pulpa de remolacha fina (0,5 mm)	76,5 ^b	80,7 ^{bc}	41,2 ^b	64,2 ^b	80,2 ^b	3.124 ^b	1,23 ^b	28,9 ^{ab}	33,1 ^b	3,32 ^{bc}
E. Celulosa microcristalina	75,1 ^b	79,0 ^c	38,6 ^b	63,8 ^b	86,2 ^a	3.082 ^b	1,11 ^{bc}	26,6 ^{ab}	46,9 ^a	3,63 ^{ab}
F. Ausencia (sepiolita)	75,5 ^b	81,8 ^b	31,0 ^c	63,3 ^b	79,8 ^b	3.082 ^b	1,04 ^c	24,3 ^b	44,2 ^a	3,81 ^a
EEM (n = 5) ³	0,59	0,59	1,53	1,12	1,40	21,2	0,059	2,83	2,52	0,147
<i>Comparación 2</i>										
Fuente de fibra										
Cascarilla de avena	79,0	83,1	46,2	67,8	84,7	3.227	1,64	34,0	42,0	3,08
Pulpa de remolacha	76,2	80,5	40,4	63,4	81,3	3.133	1,33	38,3	28,7	3,10
Tamaño de partícula										
Gruesa (2 mm)	77,0	81,4	41,2	64,8	83,1	3.175	1,58	40,6	33,3	2,97
Fina (0,5 mm)	78,2	82,2	45,5	66,4	83,0	3.185	1,38	31,7	37,4	3,20
EEM (n = 10) ³	0,43	0,41	1,62	0,64	0,85	15,3	0,054	1,82	0,71	0,976
Probabilidad de efectos ⁴										
Fuente de fibra (F)	***	***	*	***	*	***	***	NS	***	NS
Tamaño de partícula (P)	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	**	**	0,077
Interacción F x P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	***	NS

Genizas solubles. ² Las medias dentro de una misma columna que no comparten letras en el superíndice son diferentes ²EEM = Error estándar de la media (n = número de réplicas/ tratamiento) ³ NS = no significativo; * P ≤ 0,05; ** P ≤ 0,01; *** P ≤ 0,001

EFFECTO DE LAS PAREDES CELULARES DE LEVADURA (*S. CEREVISIAE*) EN DIETAS DE POLLOS INOCULADOS CON LPS (*E. COLI*)

Badia R.^{1,4}, Morales R.^{1,2}, Auclair E.², García F.³, Iborra A.⁴, Martínez P.⁴, Brufau J.¹

¹IRTA, Dep. Nutrición Animal, Apartado 415; 43280 Reus. (Roger.Badia@irta.es)

²Lesaffre Feed Additives (LFA-Francia) y ³(Saf-Agri. México)

⁴Instituto de Biotecnología y de Biomedicina, Unidad de Inmunología, Universidad Autónoma de Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Los pollos de engorde están sometidos a condiciones de alta densidad en las granjas avícolas, siendo susceptibles a los desafíos bacterianos tales como *E. coli* o sus endotoxinas. Los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos constituyen el componente principal de las membranas externas de las bacterias gram-negativas (*Salmonella spp* o *E.coli*), que se encuentran, de forma común, en el ambiente de las granjas avícolas. En pollos, la inoculación de LPS induce un importante estímulo para el sistema inmunológico (Millett *et al.*, 2007). Algunos estudios muestran que los pollos de engorde inoculados con LPS reducen su productividad. Este descenso se relaciona con la acción de interleuquinas producidas durante la fase inflamatoria aguda. Por otra parte, diversos estudios muestran los efectos inmunomoduladores de los β -glucanos en mamíferos; la mayor parte de dichos estudios se centran en el aumento en la actividad funcional de los macrófagos y de los neutrófilos (Tzianabos, 2000). En concreto, el β -1,3/1,6-glucano de la pared celular del *Saccharomyces cerevisiae*, es reconocido como una molécula extraña por el sistema inmunológico en mamíferos, peces y aves. Recientemente, Huff *et al.* (2005) han sugerido que la suplementación de las dietas con β -1,3/1,6-glucano puede tener gran valor para reducir las pérdidas de producción causadas por las enfermedades derivadas de la infección por *E. coli*. La pared de celular de la levadura (PCL) de *S. cerevisiae*, contiene gran cantidad de polisacáridos β -1,3/1,6-glucano (Aguilar-Uscanga, 2003), por ello, PCL puede ser utilizada como una fuente de polisacáridos (β -1,3/1,6-glucano y mananopolisacáridos) en la dieta del pollo de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 192 pollos broilers (Ross 308) alojados en jaulas con 8 aves de 1 a 14 días y 6 aves de 14 a 21 días. En el diseño experimental se establecieron 4 tratamientos distribuidos al azar en 6 bloques. Los tratamientos fueron: *control*, *LPS*, *PCL* y *LPS+PCL*. EL número de réplicas por tratamiento fue de 6. La dosis de PCL (*S. cerevisiae*) utilizada fue de 500 mg/kg alimento. Se utilizaron dietas en harina sin coccidiostáticos, antibióticos promotores crecimiento, ni enzimas para el alimento, la composición de la dieta experimental se muestra en la *tabla 1*. El agua y el alimento fueron suministrados *ad libitum* durante toda la prueba que duro 21 días. Se inoculó LPS (1mg LPS/kg) el día 4 de vida por vía intraperitoneal y el día 7 por vía subcutánea. Los parámetros inmunológicos se evaluaron mediante la respuesta de hipersensibilidad ante fitohemaglutinina (150 μ g PHA-P/ave), así como también por la determinación del peso relativo del bazo y la bolsa de Fabricio a los 21 días de edad. Al final del experimento se calcularon los promedios de peso vivo, ganancia diaria de peso (GPD), consumo diario de alimento (CDA) e índice de conversión alimenticia (IC). Los datos (media \pm SEM) se analizaron mediante la prueba de Duncan y los datos originales expresados en porcentajes fueron transformados a la raíz cuadrada del arco seno para su posterior análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pollos inoculados con LPS de *E. coli* mostraron menores ganancias de peso ($P<0.05$) respecto a los pollos alimentados con PCL (*Tabla 2*). Aparentemente, el menor peso del grupo tratado con LPS pudo deberse a una reducción en el consumo del alimento. Dicha reducción fue numérica ($P>0.05$) entre el grupo control y el grupo LPS, y significativa ($P<0.05$) en el caso del grupo control y el grupo LPS+PCL. A pesar

de que la utilización de PCL en la dieta de las aves no fue capaz contrarrestar los efectos negativos del LPS en el peso de las aves, el uso de PCL mejora la eficiencia alimenticia de estas aves ($P < 0.05$). El grupo LPS+PCL mostró un índice de conversión menor respecto al grupo LPS, y semejante en relación a los grupos control y con PCL (*Tabla 2*). Los resultados para parámetros inmunológicos se muestran en la *tabla 3*. Respecto a los órganos linfoides, se observó una reducción ($P < 0.05$) del peso relativo de la bolsa de Fabricio en los grupos inoculados con LPS respecto a los grupos control y PCL. No obstante, los animales inoculados con LPS+PCL no mostraron la disminución ($P < 0.05$) en el peso relativo de la bolsa de Fabricio. El menor peso relativo de la bolsa de Fabricio puede deberse a la movilización de los linfocitos B hacia los ganglios periféricos como consecuencia del estímulo provocado por el propio LPS (Nakamura *et al.*, 1986 y El Tayeb y Hanson, 2001). La respuesta de hipersensibilidad cutánea fue superior ($P < 0.05$) en los grupos PCL y LPS+PCL respecto al control. Los macrófagos y neutrófilos, células responsables de la respuesta inmune innata, reconocen estructuras conservadas de forma común en patógenos, como el LPS (Kogut *et al.*, 2005), así como a los β -glucanos (Taylor *et al.*, 2002) que están presentes la pared celular de levaduras. Estas células también desempeñan una función de enlace con la respuesta inmune adquirida mediante citocinas proinflamatorias (p.ej; IL1, IL6, TNF α) y que modulan y dirigen la posterior respuesta adquirida (Werling y Jungi, 2003). Parece que este tipo de sustancias pueden modular o contrarrestar los efectos adversos en eficiencia alimenticia y órganos linfoides del ave provocados por endotoxinas bacterianas como LPS de *E. coli*. Por ello, es necesario ampliar el conocimiento de los mecanismos de acción por los que las PCL del *S. cerevisiae* y sus β -glucanos actúan sobre las células del sistema inmune y las respuestas que desencadenan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Tzianabos A. 2000. *Clinical microbiology reviews*. 13 (4);523-533.
- Aguilar-Uscanga B, François J. 2003. *Letters in Applied Microbiology*. 37; 268-274.
- Millet S, Bennett J, Lee K, Hau M, Klasing K. 2007. *Developmental and comparative immunology*. 31;188-201.
- Huff GR, Huff WE, Rath NC, Tellez G. 2006. *Poultry Sciences*. 85(4);613-8
- Taylor P, Brown G, Reid D, Willment, Martinez-Pomares L, Gordon S, Wong S. 2002. *The Journal of immunology*. 169;3876-3882.
- Kogut MH, Iqbal M, He H, Philbin V, Kaiser P, Smith A. 2005. *Developmental and comparative immunology*. 29;791-807.
- Werling D, Jungi T. 2003. *Veterinary immunology and immunopathology*. 91;1-12.
- Nakamura K, Imada Y, Maeda M. 1986. *Veterinary Pathology*. 23(6);712-717.
- El Tayeb A, Hanson R. 2001. *Avian diseases*. 45 (2);313-320.

Tabla 1.- Composición y análisis químico calculado de la dieta experimental.

Ingredientes	(%)
Maíz	25.00
Trigo	10.00
Cebada	24.16
Torta de soja (48%)	27.13
Aceite de soja	4.00
Soja extrusionada	4.75
Otros*	4.97
<i>Análisis calculado</i>	
Energía (kcal EM/kg)	3000.00
Proteína bruta (%)	21.50
Metionina + cistina total (%)	0.96
Lisina total (%)	1.27
Calcio total (%)	1.20
Fósforo disponible (%)	0.45

*Carbonato de calcio, fosfato bicálcico, aminoácidos sintéticos, sal, núcleo de vitaminas y minerales.

Tabla 2.- Efectos de la incorporación en la dieta de paredes celulares de levadura (PCL), sobre los parámetros productivos (0-21 días) de pollos inoculados con lipopolisacárido (LPS) de *E. coli*.

Tratamiento	Peso medio (g)	GDP (g/d)	CDA (g/d)	IC (g/g)
Control	749,68 ± 14,16 ^a	33,61 ± 0,66 ^a	44,96 ± 0,88 ^a	1,338 ± 0,010 ^b
LPS	684,63 ± 16,81 ^b	30,51 ± 0,79 ^b	42,58 ± 0,97 ^{ab}	1,396 ± 0,018 ^a
PCL	744,4 ± 19,12 ^a	33,35 ± 0,91 ^a	44,28 ± 1,04 ^a	1,328 ± 0,012 ^b
PCL+LPS	692,93 ± 8,25 ^b	30,91 ± 0,38 ^b	41,56 ± 0,58 ^b	1,344 ± 0,014 ^b

Las tablas muestran la media por tratamiento (6 réplicas de 6 aves) ± SEM. Las medias dentro de una misma columna con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.05), prueba de Duncan.

Tabla 3.- Efectos de las PCL sobre los pesos relativos de los principales órganos linfoides expresados como % del peso del ave (21 días) y la respuesta de hipersensibilidad cutánea (14 días) de pollos inoculados con LPS de *E. coli*.

Tratamiento	Órganos linfoides (%)		Hipersensibilidad cutánea (mm)
	Bazo	Bolsa de Fabricio	
Control	0.114 ± 0.01 ^a	0.348 ± 0.02 ^a	0,24 ± 0,02 ^b
LPS	0.111 ± 0.01 ^a	0.246 ± 0.02 ^b	0,35 ± 0,06 ^{ab}
PCL	0.116 ± 0.01 ^a	0.318 ± 0.03 ^a	0,43 ± 0,04 ^a
PCL+LPS	0.105 ± 0.09 ^a	0.291 ± 0.01 ^{ab}	0,47 ± 0,07 ^a

Las tablas muestran la media por tratamiento (n =18 en cada tratamiento) ± SEM. Las medias dentro de una misma columna con distinta letra son diferentes estadísticamente (P<0.05), prueba de Duncan.

EFFECTO DEL NIVEL DE METIONINA, ÁCIDO LINOLEICO Y GRASA AÑADIDA A LA DIETA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD Y LA CALIDAD DEL HUEVO EN GALLINAS LOHMANN BROWN AL FINAL DEL CICLO PRODUCTIVO

Safaa, H.M.^{1,2}, Serrano, M.P.¹, Valencia, D.G.¹, Arbe, X.³, Lázaro, R.¹, Mateos, G.G.¹.

¹ Departamento de Producción Animal, UPM. Senda del Rey, s/n; 28040. Madrid.
gonzalo.gmateos@upm.es (Mateos, G.G.).

² Departamento de Producción Animal. Facultad de Agricultura del Cairo. Egipto.

³ Cantos Blancos S.L. Guadalajara.

INTRODUCCIÓN

El consumo de huevos en España está por encima de la media europea y el grado de autoabastecimiento está próximo al 120%. El mercado nacional se caracteriza por apreciar de forma desmesurada los huevos de tamaño medio superior a 63 g (clase L). En la actualidad gramajes altos se consiguen en gran parte alargando la vida útil de las aves lo que va acompañado de una peor calidad de la cáscara y un mayor porcentaje de huevos rotos (Bennett, 1992). El porcentaje de huevos comercializados sin cáscara aumenta cada año, estimándose que cerca del 20% de la producción total se consume en forma de ovoproductos y derivados. Se llevó a cabo un ensayo para estudiar el efecto del nivel de metionina, ácido linoleico y grasa añadida a la dieta sobre el tamaño del huevo y el porcentaje de huevos rotos en gallinas al final del ciclo de puesta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 960 gallinas ponedoras Lohmann Brown en el final del primer ciclo de puesta (de 56 a 75 semanas de edad). Se utilizó un diseño completamente al azar con ocho dietas isoproteicas e isoenergéticas basadas en cereales, harina de soja y aceite vegetal cuyas principales diferencias fueron el contenido de metionina (0,31 y 0,36%), ácido linoleico (1,12 y 1,60%) y grasa añadida (1,1 y 3,0%). Los piensos fueron formulados en base en las Tablas FEDNA (2003) de composición de alimentos. Se pesaron individualmente 72 gallinas por tratamiento (tres jaulas al azar por cada réplica) al inicio y al final del periodo experimental. Asimismo se controló el consumo de pienso diario por réplica al inicio de la prueba y cada 4 semanas y se llevó a cabo el conteo diario de los huevos de cada réplica contabilizando el porcentaje de huevos rotos, en fáfara y sucios de cada periodo considerado. Se calculó el índice de puesta (%), la masa de huevo y el índice de conversión por kg de huevo y por docena de huevos. El tamaño medio del huevo se calculó pesando todos los huevos producidos por réplica en los últimos tres días de cada periodo experimental. Asimismo se pesaron los huevos individualmente de cada réplica el último día de cada periodo y se clasificaron en las cuatro categorías legales: XL (>73 g), L (73-63 g), M (63-53 g) y S (<53 g). La mortalidad por réplica se controló diariamente.

Se recogieron al azar 12 huevos de cada réplica durante los últimos tres días de tres de los periodos experimentales (60, 67 y 75 semanas de edad) para determinar la calidad interna (color de la yema mediante el abanico Roche, cámara de aire, ausencia de manchas de sangre y de carne y unidades Haugh) y externa (limpieza del huevo, color y densidad de la cáscara) (Forbes, 2004) del huevo con el equipo Egg Multi Tester QCH (Technical Services y Supplies, Dunnington, Inglaterra) (Anónimo, 2002). El color de la cáscara se determinó con un colorímetro Multi Tester QCR-Trípode provisto de un lector informatizado usando los parámetros CIELAB (CIE, 1976). Se pesaron la cáscara y la yema de cada huevo y se calculó el peso del albumen por diferencia.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990) para diseños completamente al azar. Se utilizó un modelo factorial 2 x 2 x 2 con ocho tratamientos (dos niveles de metionina, dos niveles de lisina y dos niveles de grasa

añadida). Se determinaron los efectos principales y sus interacciones. Cada tratamiento se replicó seis veces y la unidad experimental estuvo constituida por cinco jaulas con cuatro gallinas cada una. Los resultados se presentan en tablas como medias normales. Para evaluar la influencia del tratamiento sobre la mortalidad se transformaron los datos mediante arcoseno para normalizar las varianzas. Se consideró un valor $P < 0,05$ para testar diferencias significativas entre tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento experimental no influyó sobre el peso vivo de las gallinas, el consumo de pienso, el índice de puesta, el peso del huevo, la masa diaria de huevo o la eficiencia alimenticia por kilo de huevo o por docena de huevos al final de la prueba ($P > 0,05$). Numéricamente el tamaño del huevo fue superior con el nivel alto de metionina (69,0 vs. 68,7 g) y con el nivel superior de grasa (69,1 vs. 68,6 g) pero estas diferencias no fueron significativas ($P > 0,05$). No se observó efecto alguno al aumentar el nivel de ácido linoleico de 1,12% a 1,60% sobre el tamaño del huevo (68,8 g en ambos casos). Al final del ciclo de puesta, el porcentaje de huevos de tamaño excesivamente grande es elevado. En estos huevos el grosor de la cáscara es menor, no sólo porque la gallina es más vieja y su capacidad para depositar carbonato cálcico sobre el huevo es menor (Elaroussi *et al.* 1994) sino también porque al ser mayor la superficie a cubrir la cantidad de calcio depositada por unidad de superficie es menor (Leeson y Summers, 2005). El efecto de los tres factores estudiados sobre la clasificación de huevos fue limitado pero de cierta importancia económica. En general y de forma numérica, al elevar el nivel de metionina del pienso de 0,31 a 0,36% mejoró el porcentaje de huevos grandes (XL + L) de 83,1 a 85,1% ($P > 0,05$). Grobas *et al.* (1996), Sohail *et al.* (2002) y Keshavarz (2003) observaron que al reducir el nivel de metionina en piensos de gallinas al final de ciclo de puesta se reducía el tamaño de los huevos excesivamente grandes sin afectar el porcentaje de huevos XL. Un efecto similar fue observado por Scragg *et al.* (1987), Grobas *et al.* (1999 a y b) y Harms y Russell (2004) al reducir el nivel de ácido linoleico y por Sell *et al.* (1987), Grobas *et al.* (1999b y c) y Keshavarz (2003) al reducir el nivel de grasa añadida. Sin embargo, no existe ningún trabajo que haya estudiado si ligeras deficiencias en uno de estos tres nutrientes afecta por igual al tamaño de todos los huevos producidos o en mayor medida a aquellos desproporcionadamente grandes. La mortalidad fue baja (0,1% mensual) y no estuvo relacionada con el tratamiento experimental ($P > 0,05$). Asimismo, el tratamiento experimental no influyó sobre el color y la calidad de la cáscara, la cámara de aire y las unidades haugh. El nivel de metionina del pienso no influyó sobre el color de la yema. El nivel de ácido linoleico de la dieta influyó sobre el color de la yema de 56 a 59, de 60 a 63 y de 68 a 71 semanas de edad ($P < 0,05$) pero no en el global de la prueba ($P > 0,05$). Al final de la misma el tratamiento experimental no influyó sobre las manchas de sangre y carne en la yema o el porcentaje de cáscara, yema y albumen. Grobas *et al.* (1999 a) observaron que un aumento en el nivel de ácido linoleico incrementaba el tamaño de la yema. Asimismo un aumento en el nivel de proteína aumenta la cantidad de albumen (Keshavarz y Nakajima, 1995). Sin embargo, un aumento en el nivel de grasa de la dieta tiene más efecto sobre la cantidad de clara que sobre la cantidad de yema (Keshavarz y Nakajima, 1995; Grobas *et al.* 1999 b y c). Whitehead *et al.* (1993) y Whitehead (1995) indicaron que el efecto se debe a la acción de ciertos ácidos grasos insaturados sobre la producción de los estrógenos responsables de la producción de albumen. Se concluye que no es necesario aumentar el nivel de ácido linoleico por encima del 1,12% en aves de más de 56 semanas de edad. El incremento de los niveles de metionina y grasa de los piensos podría mejorar el valor comercial de los huevos en gallinas ponedoras al final del ciclo de puesta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anónimo. 2002. Crack the quality myth. *Int. Poult. Prod.*, 8(4), 21-23.
- Bennett, C.D. 1992. Influence of egg weight on egg breakage in the field. *J. Appl. Poult. Res.*, 1, 399-402.
- Commission International de l'Éclairage. 1976. International Commission on Illumination, Recommendations on Uniform Color Spaces, Color Difference Equations, Psychometric Color Terms. Supplement No. 2 to C.I.E. Publication No. 15 (E-1.31) 1971/(TC-1.3). Bureau de la CIE, Paris, France.
- Elaroussi, M.A., Forte, L.R., Eber, S.L., Biellier, H.V. 1994. Calcium homeostasis in the laying hen. 1. Age and dietary calcium effects. *Poult. Sci.*, 73, 1581-1589.
- FEDNA. 2003. Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. C. de Blas, G.G. Mateos, P. G. Rebollar. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.
- Forbes, K. 2004. Management and egg quality. *Int. Poult. Prod.*, 10 (5), 18-19.
- Grobas, S., Méndez, J., G.G. Mateos. 1996. Influencia de la Nutrición sobre el tamaño del huevo. American Soybean Association. Bruselas, Bélgica. 24 pp.
- Grobas, S., Mateos, G.G., Méndez, J. 1999a. Influence of dietary linoleic acid on production and weight of eggs and egg components in young brown hens. *J. Appl. Poult. Res.*, 8, 177-184.
- Grobas, S., Méndez, J., de Blas, C., Mateos, G.G. 1999b. Laying hen productivity as affected by energy, supplemental fat, and linoleic acid concentration of the diet. *Poult. Sci.*, 78, 1542-1551.
- Grobas, S., Mendez, J., De Blas, C., Mateos, G.G. 1999c. Influence of dietary energy, supplemental fat and linoleic acid concentration on performance of laying hens at two ages. *Brit. Poult. Sci.*, 40, 681-687.
- Harms, R.H., Russell, G.B. 2004. Performance of comercial laying hens when fed diets with various sources of energy. *J. Appl. Poult. Res.*, 13, 365-369.
- Keshavarz, K., Nakajima, S. 1995. The effect of dietary manipulations of energy, protein, and fat during the growing and laying periods on early egg weight and egg components. *Poult. Sci.*, 74, 50-61.
- Keshavarz, K. 2003. Effects of reducing dietary protein, methionine, choline, folic acid, and vitamin B₁₂ during the late stages of the egg production cycle on performance and eggshell quality. *Poult. Sci.*, 82, 1407-1414.
- Leeson, S., Summers, J.D. 2005. Commercial Poultry Nutrition. 3^o ed. University Books. Guelph, Ontario, Canadá.
- SAS Institute. 1990. SAS® User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC, EE.UU.
- Scragg, R.H., Logan, N.B., Geddes, N. 1987. Response of egg weight to the inclusión of various fats in layer diets. *Brit. Poult. Sci.*, 28, 15-21.
- Sell, J.L., Angel, C.R., Escribano, F. 1987. Influence of supplemental fat on weights of eggs and yolks during early egg production. *Poult. Sci.*, 66, 1807-1812.
- Sohail, S.S., Bryant, M.M., Roland, D.A. 2002. Influence of supplemental lysine, isoleucine, threonine, tryptophan and total sulfur amino acids on egg weight of Hy-Line W-36 hens. *Poult. Sci.*, 81, 1038-1044.
- Whitehead, C.C., Bowman, A.S., Griffin, H.D. 1993. Regulation of plasma oestrogen by dietary fats in the laying hen: relationships with egg weight. *Brit. Poult. Sci.*, 34, 999-1010.
- Whitehead, C.C. 1995. Plasma oestrogen and the regulation of egg weight in laying hens by dietary fats. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 53, 91-98.

La bacitracina de cinc ¿afecta al metabolismo proteico de conejas en lactación?

Abecia, L., Balcells, J., Fondevila, M., Belenguer, A., Mota, M.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza. E-mail: balcells@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La bacitracina de cinc es el antibiótico más comúnmente utilizado en patologías digestivas, por ser activa frente a bacterias G+ y por ser escasamente absorbible en el tracto digestivo. Actúa inhibiendo la incorporación de aminoácidos y nucleótidos en la pared celular. Para su actividad, este antibiótico precisa de cationes bivalentes como el cinc.

Existe la hipótesis de que la bacitracina no se limita al control de patógenos intestinales, sino que también puede actuar sobre la cinética de absorción de nutrientes (Abecia *et al.* 2004), dado que en otras especies se ha observado que aquellos animales que la han ingerido presentan un menor grosor de su pared intestinal (King *et al.* 1980), y por tanto pudieran favorecer la absorción de nutrientes

Este trabajo pretende desvelar hasta qué punto la acción de la bacitracina sobre el animal hospedador está mediatizada por un efecto sobre el metabolismo proteico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 conejas de raza Blanco Neozelandés con un peso vivo medio a la cubrición de $4,3 \pm 0,42$ kg. Ocho animales fueron alimentados desde cinco días antes del parto con una ración control (C) formulada en base a heno de gramíneas (40 %), trigo (20 %), cebada (13 %), pulpa de remolacha (10 %) y soja (15 %) suministrada "ad libitum". Las ocho conejas restantes recibieron la misma ración suplementada con 100 ppm de bacitracina de cinc (B). Las conejas se distribuyeron al azar entre los diferentes tratamientos experimentales. Tras el parto (24h), se ajustó el número de gazapos de cada camada a 9 y 5, resultando 4 conejas con cada tamaño de camada por dieta. Los gazapos y las conejas se mantuvieron en jaulas separadas, permitiendo un solo contacto al día (entre 9-10 min.) para el amamantamiento. Entre 20 y 25 d tras el parto, las madres se alojaron en jaulas metabólicas que permitían la colección de heces y orina para determinar la excreción urinaria de 3-metil-histidina (3-MH).

El último día del periodo experimental (26 días después del parto), unas dos horas antes del inicio de la infusión se implantó bajo anestesia local (Astra Zeneca Farmaceutico Spain S.A.) un catéter en la arteria auricular [20 G 1 $\frac{1}{4}$ (1.1 x 32 mm)] y otro en la vena auricular [20 G 1 $\frac{1}{4}$ (0.9 x 25 mm)], para la infusión y el muestreo, respectivamente.

El ritmo fraccional de síntesis proteica (FSR) se determinó mediante la administración de fenilalanina marcada con deuterio ($^2\text{H}_5$ -Fenilalanina), que se infundió mezclada (40/60) con el aminoácido (AA) sin marcar, mediante una dosis de inundación (15 veces la cantidad teórica de fenilalanina libre, i.e plasmática). La cantidad de fenilalanina marcada infundida a través del catéter arterial fue de 400 mg por coneja. Diez minutos antes del inicio de la infusión se tomaron muestras a través del catéter endovenoso para determinar el enriquecimiento basal (natural) y, tras la infusión, el muestreo plasmático se repitió a los 12, 15, 20, 25, 30 y 40 min. Finalizado el muestreo se tomó una muestra de leche de las conejas, que se sacrificaron a continuación mediante una inyección letal (Thiopental, B Braun Medical S.A.). Tras el sacrificio, se procedió al muestreo (2-3 g de tejido) de duodeno, hígado, glándula mamaria y músculo semi-tendinoso.

Para la determinación del enriquecimiento plasmático, la sangre fue centrifugada y el plasma desproteinizado con ácido tricloroacético y desalinizado por cromatografía de intercambio iónico en una resina AG 50W-X8 H+ (Bio-Rad, Hercules, USA). Después, los aminoácidos fueron eluidos con NH_4OH 2M, congelados y liofilizados. Las muestras preparadas de tejido y plasma fueron analizadas según fue descrito por Belenguer *et al.* (2004).

El ritmo fraccional de síntesis proteica, se determinó a partir de los enriquecimientos calculados (S) de la fenilalanina libre (Sa) y la conjugada (Sb), $[\text{FSR} (\%/d) = (\text{Sb}/\text{Sb}) \times$

(100xt)]. La tasa fraccional de degradación de la proteína en músculo (FDRms) se calculó a partir de la excreción de 3-MH y su concentración en músculo, asumiendo que la reutilización de 3-MH es nula [FDR = 3-MH (mg/d) x (3-MH mg/g músculo)].

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico SAS versión 8 (Institute Inc. Cary, NC USA) considerando un diseño factorial 2 x 2 para los efectos ración (B vs C) y tamaño de camada (5 vs 9).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron dificultades en los animales ni en la adaptación a la ración ni en las modificaciones en el tamaño de camada. En la Tabla 1 se presenta la ingestión de MS, producción de leche, peso vivo así como los cambios de peso de las conejas registrados en el periodo previo a su sacrificio (del día 17 al 24 post-parto).

Tabla 1: Ingestión de materia seca (g/d), producción de leche (g/d), peso vivo al sacrificio y cambios de peso vivo (g/d) de las conejas en el periodo previo al sacrificio (media de días 17 al 24).

Tratamiento	C 9	C 5	B 9	B 5	ES	C vs B	9 vs 5	Interacc
Ingestión MS	277,6	291,1	313,5	280,6	16,9	NS	0,09	NS
Producción de leche	219,5	194,4	215,1	177,0	10,2	NS	0,01	NS
Peso vivo	4092,5	4052,3	3924,8	3970,4	44,5	NS	NS	NS
Cambios de peso	-3,6	-1,1	-13,4	-20,6	51,1	NS	NS	NS

Las conejas con mayor tamaño de camada produjeron más leche (217 vs 185 g/d; $P < 0,01$), pero ello no se reflejó ni en diferencias en el consumo de alimento (290 g/d; $P > 0,05$) ni en la movilización de reservas corporales, aunque en este parámetro la variabilidad fue muy elevada ($CV = 0,37$). El consumo de antibiótico no modificó ninguno de estos parámetros.

En la Tabla 2 se presentan las tasas fraccionales de síntesis proteica obtenidas en los diferentes tejidos, estimadas a partir de la incorporación de fenilalanina marcada. Las mayores tasas fraccionales de síntesis se registraron en la mucosa intestinal [duodenal, $51,7 \pm 1,47 \% d^{-1}$], seguidas por las de la glándula mamaria y el hígado, que mostraron tasas similares [$38,29 \pm 1,85 \% d^{-1}$ y $40,2 \pm 1,85 \% d^{-1}$, respectivamente], correspondiendo los menores valores al tejido muscular [$2,92 \pm 0,19 \% d^{-1}$]. Estas diferencias entre tejidos, excluyendo la glándula mamaria, coinciden con el gradiente propuesto por Simon *et al* (1982) en cerdos de 50 kg, aunque Loble *et al* (1980) obtuvieron en vacuno tasas superiores en el tejido muscular (de 14 a 17 $\% d^{-1}$) que en el hepático (de 5 a 8 $\% d^{-1}$).

Las bajas tasas fraccionales de síntesis en tejido muscular obtenidas en conejas en lactación en relación a los valores relativos obtenidos en otras especies pueden responder a una reducción del ritmo de síntesis para cubrir las elevadas necesidades de la coneja en esta fase fisiológica.

No se dispone de datos publicados relativos al ritmo de síntesis y/o degradación en conejos ingiriendo bacitracina, aunque las tasas registradas en animales adultos en condiciones de mantenimiento y mediante la incorporación de ^{14}C tirosina son del mismo orden (Nicholas *et al*. 1977) tanto en tejido muscular (2 $\% d^{-1}$) como hepático (3 $\% d^{-1}$).

La ingestión de bacitracina no modificó las tasas de síntesis proteica en hígado, músculo o intestino. No obstante, a nivel de glándula mamaria, las conejas que ingirieron el antibiótico presentaron una menor tasa de incorporación del isótopo o una menor tasa fraccional de síntesis proteica ($43,2$ vs $33,2 \pm 1,45 \% d^{-1}$; $P < 0,02$). Por otra parte, el tamaño de camada no alteró los procesos de síntesis en la mama pero las conejas con mayor número de gazapos

mostraron una menor incorporación del isótopo a nivel duodenal (56,0 vs 47,4 ± 1,85, P> 0,017). Estas diferencias registradas en el ritmo de incorporación del isótopo no se reflejaron ni en una mayor producción de leche ni en un consumo más eficiente.

Tabla 2: Ritmo fraccional de síntesis (FSR) en hígado, duodeno, glándula mamaria y músculo junto con los ritmos de degradación muscular (FDR) y de renovación muscular (% diario) en conejas a los 26 días de lactación alimentadas con una dieta convencional suplementada (B) o no (C) con bacitracina de cinc y amamantando 5 ó 9 gazapos.

FSR (%/d)	C 5	C 9	B 5	B 9	ES	C vs B	5 vs 9	Interacc.
Hígado	39,45	40,29	40,15	41,14	1,40	NS	NS	NS
Duodeno	58,45a	45,09b	53,55a	49,73b	1,47	NS	0,02	NS
Glándula mamaria	46,48a	40,09a	32,83b	33,76b	1,85	0,025	NS	NS
Músculo	3,14	2,62	3,22	2,75	0,19	NS	NS	NS
FDR (%/d)								
Músculo	2,19	1,94	2,25	2,64	0,08	NS	NS	NS
Renovación (%/d)	0,88	0,911	0,64	0,23	0,44	NS	NS	NS

En la Tabla 2 se presenta también el ritmo de degradación muscular determinado a partir de la excreción de 3-MH, asumiendo que la mayor parte de este compuesto se halla en el músculo en una concentración de 0,814 ± 0,017 µmol/g (Harris *et al.* 1977). El músculo se degradó, en conejas en lactación, a una menor tasa (2,25 ± 0,08 %/d) que sus síntesis (2,93 ± 0,19%/d) con lo cual el ritmo de renovación resultó en una síntesis neta de proteína (0,66±0,44 %/d). Tanto los ritmos de síntesis como los de degradación en esta fase fisiológica fueron superiores a los determinados en conejos adultos en mantenimiento (Ks = 1,31 y Kd = 1,45 % d⁻¹, Harris *et al.* 1977) y en ningún caso fueron modificados por el tratamiento experimental.

La ingestión de bacitracina no alteró las tasas de síntesis proteica ni a nivel muscular ni hepático. Tampoco se apreciaron alteraciones en el metabolismo muscular, y sólo se observó una mayor actividad sintética en la mama inducida por la ingestión de este compuesto.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el proyecto DGA PM 095/2006. Los análisis isotópicos fueron realizados en el laboratorio de isótopos estables del Rowett Research Institute, financiados por el programa Marie Curie (MASS School Programme). L. Abecia disfrutó una beca para formación de investigadores del Gobierno Vasco.

REFERENCIAS

- Abecia, L., Balcells, J., Fondevila, M., Belenguer, A., Calleja, L. 2004. *Anim. Res.* 54, 307-314.
- Belenguer, A., Balcells, J., Guada, J.A., Decoux, M., Milne, E. 2004. *Br J Nutr.* 94, 1-9.
- Harris, C.I., Milne, G., Lobley, G.E., Nicholas, G.A. 1977 *Biochem Soc T.* 5, 706-708.
- King, J. O. L. 1980. *Br. Vet. Sci.* 136, 240-248.
- Lobley, G.E. Milne, V.;Lovie, J.M., Redes, 1980. *Br. J. Nutr* 43, 491-502.
- Nicholas, G.A., Lobley, G.E., Harris, C.I. 1977. *Br. J. Nutr.* 38,1-17.
- Simon, O., Bergner, H., Munchmeyer, 1982. *Br. J. Nutr.* 48, 571-582.

SCREENING DE PRODUCTOS COMERCIALES SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL IN VITRO (TILLEY & TERRY)

Moya, D., Calsamiglia, S., Ferret, A., Fandiño, J.I.
Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona,
08193 - Bellaterra, España. e-mail: Sergio.Calsamiglia@uab.es

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de engorde intensivo de terneros utilizan cantidades elevadas de cereales. Sin embargo, dietas rápidamente fermentables resultan en la reducción del pH ruminal provocando desordenes en la fermentación microbiana (acidosis, meteorismo) y pérdidas económicas (Nocek, 1997). Durante muchos años se han utilizado antibióticos ionóforos para mejorar la producción de carne y prevenir o reducir la incidencia de desordenes digestivos, así como para incrementar la producción de propionato (más eficiente en términos de energía) y reducir la producción de metano (Bergen y Bates, 1984). Sin embargo, la prohibición del uso de estos antibióticos en la Unión Europea obliga a la investigación y desarrollo de aditivos que los sustituyan. Diferentes productos existentes en el mercado, entre los que se incluyen las levaduras, extractos de plantas, taninos y saponinas, han mostrado la capacidad de controlar algunos de estos procesos.

Este experimento tiene como objetivo determinar los efectos de diferentes aditivos disponibles en el mercado sobre la fermentación ruminal y sus dosis óptimas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el procedimiento de fermentación tipo Tilley y Terry (1963). Se utilizaron un total de 36 tubos de polipropileno de 100 ml por aditivo. Cada aditivo fue probado por triplicado a tres dosis distintas y a dos pH (7.0 y 6.0), repitiendo el proceso en dos periodos. El líquido ruminal fue obtenido de dos terneros fistulados en el rumen y alimentados con una dieta rica en concentrado que cumplía las recomendaciones del NRC (1996). Cada tubo fue inoculado con 50 mL de la mezcla del líquido ruminal y la solución tampón (Tilley y Terry, 1963) en una relación 1:1, y ajustada a pH 7.0 y 6.0 con HCl 3 N y NaOH 5 N. Cada tubo contenía 0.5 g de la dieta (16.6% proteína bruta, 22.0% FND, y 12.4% FAD en base a MS), compuesta por (en base a MS): festuca (9.75%), cebada (44.6%), maíz (27.6%), cascarilla de soja (13.4%), soja (3.9%), minerales (0.7%) y urea (0.1%), formulada para cumplir las necesidades de terneros en crecimiento. Los tratamientos fueron: control negativo (**CTR**), dos fuentes de taninos (**TAN1** y **TAN2**), tres fuentes de saponinas (**SAP1**, **SAP2** y **SAP3**), dos fuentes de levaduras (**LEV1** y **LEV2**), ácidos grasos de arroz (**AGA**), ajo en polvo (**AJO**) y una fuente de alcaloides naturales (sanguinarina y chelitrina, **ANP**). Los tratamientos fueron suministrados por laboratorios Karizoo (Laboratorios Carrizo S.A., Pol. Ind. La Borda, 08140 Caldes de Montbui, Barcelona, España). Tras añadir el inóculo, cada tubo fue infundido con CO₂ y cerrado con tapones de goma con una válvula plástica para la fuga de gases. Todos los tratamientos fueron incubados en un baño maría durante 24 horas y a 39°C, agitándose manualmente cada 6 horas.

A las 24 horas se midió el pH final y se tomaron 2 muestras. La primera muestra se conservó en un frasco que contenía 1 mL de solución desproteinizante (0.2% de cloruro de mercurio, 2% de ácido ortofosfórico y 0.2% de 4-metil valérico como marcador interno) y se analizó para determinar ácidos grasos volátiles (**AGV**) por cromatografía de gases (Jouany, 1982). La segunda muestra de 4 mL se conservó en otro frasco que contenía 4 mL de solución conservadora (HCl concentración 0.2 N), y se analizó para determinar N amoniacal mediante espectrofotometría (Chaney y Marbarch, 1962). Con el fin de ayudar en la

interpretación de los resultados, los valores de los CTR a pH 7.0 y 6.0 fueron estandarizados a 100%, y todos los resultados fueron comparados como variación respecto al CTR. Los datos fueron analizados utilizando el PROC GLM del SAS (versión 9.1, SAS Institute, Inc., Cary, NC) en un diseño de bloques completamente al azar, cuyo modelo contenía los efectos de las dosis, los dos niveles de pH, y las interacciones entre dosis y pH. El efecto periodo fue considerado bloque. Las diferencias significativas fueron declaradas a $P < 0.05$ utilizando el test de comparaciones múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra la comparación de los controles a pH 7.0 y pH 6.0 respecto al perfil de fermentación ruminal.

Tabla 1. Efecto de la disminución de pH de 7.0 a 6.0 en el perfil de fermentación ruminal en los controles (CTR)

Item	Tratamiento		SEM	p-valor
	CTR 7.0	CTR 6.0		pH
AGV Total (mM)	191.6	166.1	6.51	<0.01
C2:C3	2.65	2.17	0.13	<0.01
AGV Ramificados (mM)	6.49	5.62	0.59	0.20
NH ₃ , mg/100ml	32.0	26.8	4.23	0.30
pH final	5.55	5.12	0.13	<0.01

Igual que en los controles, en todos los aditivos utilizados la reducción del pH inicial de 7.0 a 6.0 resultó en una disminución ($P < 0.01$) de la concentración de AGV totales, de los AGV ramificados (excepto LEV2 y AJO), de la relación C₂:C₃ y del pH final.

El efecto dosis fue significativo para SAP2, LEV1 y ANP en los AGV totales; para TAN2, SAP1, SAP2, LEV1 y AJO en los AGV ramificados; para TAN1, TAN2, LEV2, AJO y ANP en la relación C₂:C₃; para TAN1, TAN2 y ANP en la concentración de NH₃; y para LEV1, LEV2 y AJO en el pH final. La interacción entre el pH inicial y la dosis utilizada de cada aditivo fue significativa para TAN1, TAN2 y SAP2 en AGV totales y ramificados; para TAN1 en la relación C₂:C₃; para LEV1 y ANP en la concentración de NH₃; y para LEV1 en el pH final.

En la Tabla 2 se muestran únicamente los datos de los aditivos y la dosis (en mg/L) que demostraron un efecto ($P < 0.05$) respecto al control del mismo pH. Cuando el pH fue 7.0, TAN1, TAN2, SAP2, LEV1 y ANP aumentaron la concentración de AGV totales; TAN1, TAN2, SAP2, LEV1, LEV2, ANP y AJO aumentaron la relación C₂:C₃; TAN1, TAN2, SAP1, SAP2 y LEV1 incrementaron los AGV ramificados; TAN1 y TAN2 redujeron la concentración de NH₃, mientras que SAP2 y ANP la aumentaron; TAN1 y LEV2 aumentaron el pH final, mientras que SAP1, SAP2, SAP3, LEV1 y AJO lo redujeron. Cuando el pH fue 6.0, TAN1 redujo la concentración de AGV totales; TAN2, SAP1 y SAP3 aumentaron la relación C₂:C₃; AJO incrementó los AGV ramificados; TAN1, TAN2 y LEV1 disminuyeron la concentración de NH₃, mientras que ANP la aumentó; y TAN1 y SAP3 aumentaron el pH final. Todos los aditivos tuvieron algún efecto excepto AGA.

Tabla 2. Efectos de los aditivos a dosis baja, media y alta (en mg/L) y a pH 7.0 y 6.0 en los perfiles de fermentación ruminal comparados en porcentaje respecto al control¹.

Tratamiento y dosis (mg/L)	pH 7					pH 6				
	AGV Tot	C2:C3	Ramific.	NH ₃	pH Final	AGV Tot	C2:C3	AGV Ramific.	NH ₃	pH Final
CTR	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
TAN1, 50	109	111	126	-	-	-	-	-	-	100,4
TAN1 200	-	113	124	-	102,0	92	-	-	79	100,4
TAN1 400	106	115	121	84	-	-	-	-	60	100,6
TAN2 50	111	108	129	-	-	-	-	-	-	-
TAN2 200	109	106	132	-	-	-	-	-	-	-
TAN2 400	108	109	129	91	-	-	-	-	74	-
SAP1 50	-	-	107	-	98,5	-	-	-	-	-
SAP1 200	-	-	-	-	97,8	-	-	-	-	-
SAP1 400	-	-	108	-	98,5	-	105	-	-	-
SAP2 10	114	-	116	108	96,7	-	-	-	-	-
SAP2 20	110	105	111	-	98,0	-	-	-	-	-
SAP2 200	108	108	111	111	98,5	-	-	-	-	-
SAP3 50	-	-	-	-	98,7	-	-	-	-	100,8
SAP3 200	-	-	-	-	99,0	-	106	-	-	-
SAP3 400	-	-	-	-	99,3	-	105	-	-	-
LEV1 10	108	-	111	-	99,1	-	-	-	89	-
LEV1 50	-	103	-	-	99,3	-	-	-	89	-
LEV1 200	-	104	-	-	99,6	-	-	-	91	-
LEV2 100	-	103	-	-	-	-	-	-	-	-
LEV2 500	-	103	-	-	-	-	-	-	-	-
LEV2 1000	-	105	-	-	-	-	-	-	-	-
ANP 10	107	110	-	117	97,4	-	106	-	-	-
ANP 50	-	108	-	112	-	-	105	-	113	-
ANP 200	-	105	-	-	-	-	-	-	113	-
AJO 50	-	105	-	-	99,0	-	-	112	-	-
AJO 200	-	103	-	-	-	-	-	-	-	-
AJO 400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ Sólo se indican los valores cuando las diferencias fueron significativas respecto al control.

Los resultados indican que los efectos de los aditivos comerciales probados sobre la fermentación ruminal de dietas para cebo intensivo varían dependiendo del pH ruminal, siendo a pH inicial de 7.0 cuando la mayoría de los aditivos tuvieron una mayor actividad. El incremento en la producción total de AGV y la reducción de la concentración de nitrógeno amoniacal observada con las dos fuentes de taninos, sugiere que pueden ser útiles en la manipulación de la fermentación microbiana ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- NRC, 1996. Nat. Acad. Press. Washington, DC.
 Nocek, J. E. 1997. J. Dairy Sci. 80:1005-1028.
 Bergen, W. G., Bates, D. B.. 1984. J. Anim. Sci. 58:1465-1483.
 Union Europea. 2003. Regulación (EC) No 1831/2003 del 22 Septiembre.
 Tilley, J. M. A., Terry, R. A.. 1963. J. Brit. Grass. Soc. 18:104-111.
 Jouany, J. P. 1982. Sci. Aliment. 2:131-144.
 Chaney, A. L., Marbach, E. P.. 1962. Clin. Chem. 8:130-132.

CUANTIFICACIÓN DE *Streptococcus bovis* Y *Megasphaera elsdenii* EN LÍQUIDO RUMINAL DE VACA Y TERNERA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PCR A TIEMPO REAL

Blanch, M.¹, Calsamiglia, S.¹, Castelló, A.²

¹Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal. ²Servei Veterinari de Genètica Molecular. Dept de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra. (* martabs80@hotmail.com)

INTRODUCCIÓN

La acidosis ruminal es uno de los desórdenes nutricionales más comunes en vacuno lechero y de engorde. Los sistemas productivos actuales en nuestro país tienden cada vez más a la intensificación. El incremento en la proporción de carbohidratos rápidamente fermentables en la dieta se traduce en una acumulación de ácidos grasos volátiles y lactato, incrementando el riesgo de acidosis. En España, la acidosis es la segunda afección más frecuente en cebaderos industriales (Bermúdez, 2002). El impacto económico asociado a la acidosis es importante, y se ha estimado que en el sector norteamericano se sitúa alrededor de 500-1000 millones de US dólares anualmente (Stone, 1999). Las bacterias productoras (*Streptococcus bovis*) y utilizadoras (*Megasphaera elsdenii*, *Selenomonas ruminantium*) de lactato juegan un papel importante en el desarrollo de la acidosis. El desarrollo de técnicas para cuantificar estas bacterias podría ser una herramienta de gran utilidad para el estudio de la acidosis ruminal. La PCR a tiempo real (qRT-PCR) es un método que permite cuantificar microorganismos. Este trabajo trata del desarrollo y aplicación de la qRT-PCR para detectar y cuantificar dos bacterias ruminales asociadas con la acidosis (*S. bovis* y *M. elsdenii*).

MATERIAL Y MÉTODOS

En la primera fase, se puso a punto la técnica de qRT-PCR. Se utilizaron los cultivos puros de *S. bovis* (DSM 20480) y de *M. elsdenii* (DSM 20460). Para la extracción de DNA de los cultivos puros se siguió el protocolo de Whitford *et al.* (1998) con algunas modificaciones. El DNA se cuantificó mediante espectrofotometría (NanoDrop®ND-1000). Los oligonucleótidos específicos para amplificar *S. bovis*, como también las sondas Taqman para *S. bovis* y *M. elsdenii*, fueron diseñados a partir de la secuencia del 16S DNA ribosomal usando el software Primer Express™. Los oligonucleótidos utilizados para amplificar *M. elsdenii* fueron los diseñados por Ouwerkerk *et al.* (2002). En la Tabla 1 se muestran las secuencias de los oligonucleótidos y de las sondas Taqman utilizadas. Las condiciones de la qRT-PCR fueron las siguientes: 20 µL de volumen de reacción final, con 1x TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems), oligonucleótidos a una concentración final de 900 nM cada uno, sonda Taqman a 250 nM, y 100 ng de DNA genómico (5 µL a 20 ng/µL). Se utilizó el aparato ABI PRISM® 7900 HT Sequence Detection System (Applied Biosystems) para correr las qRT-PCR usando placas de 96 pozos y con los siguientes parámetros de amplificación: 2 min a 50°C, 10 min a 95°C, y 40 ciclos de 15 s a 95°C y 1 min a 60°C.

Tabla1. Oligonucleótidos y sondas Taqman para la detección de *S. bovis* y *M. elsdenii*.

	Oligo. Forward	Oligo. Reverse	Sonda Taqman-MGB	Tño frag. (pb)
<i>S. bovis</i>	S. bovis F: 5'-GAT AGC TAA TAC CGC ATA ACA GCA TT-3'	S. bovis R: 5'-AAC GCA GGT CCA TCT ACT AGT GAA-3'	5'-TGC TCC TTT CAA GCA T-3'	84
<i>M. elsdenii</i>	MelsF: 5'-GAC CGA AAC TGC GAT GCT AGA-3'	MelsR: 5'-CGC CTC AGC GTC AGT TGT C-3'	5'-ACT GGT GTT CCT CCT AAT A-3'	129

En la segunda fase, se realizó un estudio comparativo de las poblaciones de *S. bovis* y *M. elsdenii* mediante la qRT-PCR entre vacas y terneras. Se utilizaron 4 vacas lecheras canuladas (696 ± 94 kg) y cuatro terneras de engorde canuladas (221 ± 17 kg). La dieta de las vacas consistía en TMR *ad libitum* (15.6% PB y 35.4% FND, en base a MS) y 3 kg de concentrado (25.8% PB, 21.7% FND y 2.9% EE, en base a MS). A las terneras se les administró una dieta 10:90 paja de trigo:concentrado (15.7% PB y 22.3% FND, en base a MS). Durante 5 días consecutivos, se tomaron muestras de líquido ruminal a las 0, 4, 8 y 12 h post-alimentación. El pH ruminal se midió inmediatamente mediante un pHmetro portátil (Crison®). Se filtró el líquido ruminal con doble capa de gasa, se tomaron submuestras del filtrado en eppendorfs estériles, y se congelaron a -20°C hasta el análisis de qRT-PCR.

Los resultados del estudio comparativo entre vacas y terneras se analizaron usando el PROC MIXED del SAS (versión 8.2) para medidas repetidas. El modelo contenía el grupo (vaca o ternera), la hora, el día, y las interacciones grupo*hora y grupo*día.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La especificidad de los oligonucleótidos y las sondas diseñadas en este estudio para detectar *S. bovis* y *M. elsdenii* se comprobó usando cultivos puros de las bacterias en estudio como también cultivos puros de otras bacterias ruminales como controles negativos en la qRT-PCR (*Clostridium aminophilum* DSM 10710, *Clostridium sticklandii* DSM 519, *Peptostreptococcus anaerobius* DSM 2949, *Butyrivibrio fibrisolvens* DSM 3071, *Ruminococcus albus* DSM 20455, *Anaerovibrio lipolyticus* DSM 3074 y *Lactobacillus acidophilus* CECT 903NT). Los resultados confirmaron la especificidad (no se muestran los datos).

Las curvas patrón de cada bacteria sirven para determinar la eficiencia de la qRT-PCR. Las curvas de *S. bovis* y *M. elsdenii* tuvieron unas pendientes de -3.636 y -3.333 respectivamente, lo que corresponde a unas eficiencias del 88% y 99%, según los cálculos de Ginzinger (2002), además de unos $R^2=0.999$. La sonda Taqman diseñada para *M. elsdenii* mejoró la eficiencia observada por Ouwerkerk *et al.* (2002).

La cuantificación de *S. bovis* y *M. elsdenii* en vacas y terneras se muestra en la Tabla 2. La cantidad de *S. bovis* fue 145 veces mayor en vacas que en terneras. Estos resultados concuerdan con Krause *et al.* (2003), que observaron que *S. bovis* era la especie dominante en animales alimentados a base de forraje comparado con animales alimentados a base de concentrado (90% y 40% del total de bacterias, respectivamente). Al contrario, Goad *et al.* (1998) observaron recuentos superiores de *S. bovis* en terneros alimentados a base de concentrado que los alimentados a base de forraje. En principio, se puede pensar que los recuentos de *S. bovis* tengan que ser superiores en dietas altas en concentrado, debido a su actividad amilolítica, pero eso sólo se ha observado en los periodos de transición, y una vez los animales ya están adaptados a una dieta concentrada los recuentos de *S. bovis* disminuyen y los de lactobacilos aumentan (Tajima *et al.*, 2001). La cantidad de *M. elsdenii* fue 13 veces inferior en vacas que en terneras, aunque las diferencias no fueran significativas debido al alto error estándar. Estos resultados coinciden con Goad *et al.* (1998) y Krause *et al.* (2003) que también observaron mayores recuentos de bacterias utilizadoras de lactato (*M. elsdenii*) en animales con una dieta alta en concentrado que en una dieta alta en forraje. Además, Ouwerkerk *et al.* (2002) no detectaron *M. elsdenii* mediante qRT-PCR en el contenido ruminal de terneros alimentados a base de pastos.

La ratio *S. bovis*:*M. elsdenii* fue 49 veces superior en vacas que en terneras. En este estudio, se planteó la hipótesis que esta ratio podía servir como índice para evaluar el riesgo de acidosis, debido a que relaciona los productores y los utilizadores de lactato, permitiendo más o menos acumulación de éste. Así, cuanto más alta es la ratio mayor es el riesgo de acidosis. Nuestros resultados no sugieren que esta ratio sea un buen índice para evaluar el

riesgo de acidosis, porque a pesar de observar diferentes ratios en vacas que en terneras, su pH fue similar (6.26 ± 0.305).

Tabla 2. Cuantificación de *S. bovis*, *M. elsdenii* y ratio *S. bovis*:*M. elsdenii* en vacas (n=20) y terneras (n=20).

	Terneras	Vacas	SEM ¹	P-valor
<i>M. elsdenii</i> , pg/100 ng DNA total				
0	60.9	4.08	27.7	NS
4	48.2	4.59	27.7	NS
8	44.1	3.76	27.7	NS
12	57.5	3.72	27.7	NS
Media	52.7	4.04	25.4	NS
EEM	39.1	0.618		
P-valor	NS	NS		
<i>S. bovis</i> , pg/100 ng DNA total				
0	1.31	373.5	27.9	< 0.01
4	1.22	318.0	27.9	< 0.01
8	1.07	230.8	27.9	< 0.01
12	4.27	216.4	27.9	< 0.01
Media	1.97	284.7	21.7	< 0.01
EEM	2.26	39.4		
P-valor	NS	< 0.05		
<i>S. bovis</i> : <i>M. elsdenii</i> ratio				
0	0.43	86.0	8.74	< 0.01
4	1.84	74.7	8.74	< 0.01
8	1.14	58.7	8.74	< 0.01
12	1.89	54.3	8.74	< 0.01
Media	1.33	68.4	7.66	< 0.01
EEM	0.830	12.3		
P-valor	NS	< 0.05		

EEM= Error Estándar de la Media.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bermúdez, J.H. 2002. Congreso de la Sociedad Española Medicina Interna Veterinaria, 2002:96-102.
- Ginzinger, D.G. 2002. Experimental Hematology. 30:503-512.
- Goad, D.W., Goad, C.L., Nagaraja, T.G. 1998. J. Anim. Sci. 76:234-241.
- Krause, D.O., Smith, W.J.M., Conlan, L.L., Gough, J.M., Williamson, M.A., McSweeney, C.S. 2003. Microbiology. 149:57-65.
- Ouwerkerk, D., Klieve, A.V., Forster, R.J. 2002. J. Appl. Microbiol. 92:753-758.
- Stone, W.C. 1999. Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. Cornell Univ., pages: 40-46.
- Tajima, K., Aminov, R.I., Nagamine, T., Matsui, H., Nakamura, M., Benno, Y. 2001. Appl. Environ. Microbiol. 67:2766-2774.
- Whitford, M.F., Forster, R.J., Beard, C.E., Gong, J., Teather, R.M. 1998. Anaerobe 4:153-163.

EVALUACIÓN DE DOS MODELOS MECANÍSTICOS EN LA EXCRECIÓN DE N EN VACAS LECHERAS ALIMENTADAS CON ENSILADOS DE HIERBA CONSERVADOS CON ÁCIDO FORMICO O ENSILADO DE MAIZ

Salcedo Díaz, G.

Dpto. de Tecnología Agraria del I.E.S. "La Granja", 39792 Heras, Cantabria

E-mail: gregoriosalce:@ono.com

INTRODUCCION

Entre los diferentes modelos de racionamiento, el *Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS 5.0) propuesto por Fox *et al.*, (2003) es un modelo diseñado para condiciones intensivas, quien integra una serie de ecuaciones que describen los procesos fisiológicos del ganado. Sin embargo, en condiciones semi-intensivas (pastoreo o ensilados) con bajos aportes de concentrado, la literatura considera ciertas reservas del CNCPS para vacas de alta producción, sugiriendo la necesidad de crear un modelo nutricional para tales condiciones (Edwards y Parker, 1994; Muller *et al.*, 1995). El modelo HERAS (Salcedo, 2006), es un modelo mecanístico desarrollado en condiciones experimentales semi-intensivas, quien partiendo de componentes nutricionales, estima la excreción de nitrógeno en heces y orina, así como la utilización para leche. El objetivo del presente trabajo es comparar dichos modelos en condiciones de alimentación con ensilados fermentados con diferentes conservantes o suplementados con otros forrajes.

MATERIAL Y METODOS

Las dietas y los animales empleados ya fueron descritos en otra comunicación presentada en estas mismas Jornadas.

Modelos evaluados

a) CNCPS 5.0 (Fox *et al.*, 2003): los datos introducidos para validar el CNCPS se dividieron en dos categorías: primero "animal", que incluía la producción láctea, composición química, peso vivo, ingestión de alimento, número de parto, peso vivo y días de lactación. La segunda: "alimento", que incluía, cenizas, proteína bruta, fibras neutro y ácido detergente, proteína ligada a ambas, lignina, grasa, almidón, proteína soluble, nitrógeno no proteico y carbohidratos no fibrosos. La tasa de degradación de los carbohidratos fue tomada de la propia base de datos del CNCPS y la proteína soluble según los resultados procedentes de la incubación en rumen obtenidos mediante la técnica "in sacco" (Mehrez y Ørskov, 1977) para un ritmo de paso $k=0,06 \text{ h}^{-1}$. Como FND fisiológicamente efectiva (peNDF) se consideró el 80% de la total, por tratarse de forraje de alta calidad (Mertens, 1997).

b) HERAS (Salcedo, 2006): las ecuaciones evaluadas se agruparon en dos categorías:

1) dietas con ensilados:

$$\text{N heces (g/d)} = 65,1 + 36,4 \text{ PNDR}_i + 5,48 \text{ F}_i; \pm 9,16 \text{ r}^2=0,91; n = 1101$$

$$\text{N orina (g/d)} = 137,8 - 40,5 \text{ Alm}_i + 0,26 \text{ N}_i; \pm 14,2 \text{ r}^2=0,82; n = 1101$$

$$\text{N heces + orina (g/d)} = 19,4 + 88,9 \text{ PDR}_i + 13,6 \text{ FND}_i; \pm 17,6 \text{ r}^2=0,91; n = 1101$$

$$\% \text{ N excretado en leche} = 22,4 - 4,14 \text{ PB}_i + 3,14 \text{ Alm}_i; \pm 3,72 \text{ r}^2=0,39; n = 1663$$

2) dietas con ensilados y forrajes verdes:

$$\text{N heces (g/d)} = -106,8 + 41,1 \text{ PNDR}_i + 12,4 \text{ MS}_i; \pm 15,8 \text{ r}^2=0,89; n = 1534$$

$$\text{N orina (g/d)} = -90,2 + 11,3 \text{ g PB/MJ EM} + 8,62 \text{ FND}_i; \pm 15,8 \text{ r}^2=0,65; n = 1534$$

$$\text{N heces + orina (g/d)} = -60,1 + 86,4 \text{ PDR}_i + 10,4 \text{ MS}_i; \pm 0,88 \text{ r}^2=87; n = 1534$$

$$\% \text{ N excretado en leche} = 34,12 - 0,048 \text{ N}_i + 0,68 \text{ MOD}_i; \pm 4,31 \text{ r}^2=0,37; n = 2697$$

PNDR_i = Proteína No Degradable en Rumen (kg/d); **MS_i** = Materia Seca ingerida (kg/d); **gr PB/MJ EM** = Proteína Bruta por Megajulio de Energía Metabolizable (gr/MJ); **FND_i** = Fibra Neutra Detergente ingerida (kg/d); **F_i** = Forraje ingerido (kg/d); **PDR_i** = Proteína Degradable en Rumen ingerido (kg/d); **Alm_i** = Almidón ingerido (kg/d); **N_i** = Nitrógeno ingerido (g/d); **PB_i** = Proteína Bruta ingerida (kg/d); **MOD_i** = Materia Orgánica Digestible ingerida (kg/d).

Los resultados de cada ensilado, vaca y día se introdujeron en el CNCPS y HERAS para obtener las correspondientes estimaciones de cada uno de ellos analizando los valores observados vs estimados mediante análisis de regresión con el PROC REG (SAS, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSION

La excreción de N observada y la estimada por el modelo Heras (Salcedo, 2006) y CNCPS (Fox *et al.*, 2003) vienen reflejada en la Tabla 1. Para el conjunto de datos observados, el N de las heces fue $172 \pm 1,5$ g N/d, similares al modelo HERAS ($171 \pm 2,2$ g N/d) e inferior al estimado por el CNCPS ($208 \pm 1,9$ g de N/d) (Tabla 1). Por su parte Haig *et al.*, (2002), también observaron una sobreestimación en el N de las heces por el CNCPS en 24,6 g N/d cuando las vacas lecheras son alimentadas con dietas mezcladas que contienen 2,82 g N/100 g de MS, muy semejantes a los resultados obtenidos en el presente trabajo de 36 g N/d para el conjunto de datos. No obstante, para los ensilados estudiados, el N de las heces observado presenta mejor coeficiente de determinación en el modelo HERAS que el CNCPS ($r^2=0,63$ vs $0,24$) (Tabla 2).

Tabla 1
Ingestión y excreción de N por ensilado y sistema

Observado	1º Experimento		2º Experimento			Sig.	
	EHEM	ETriEM	EHEM	EHAF	EHSC	et	Sig
MS ingerida (kg/d)	19,8	19,75	21,0	20,7	17,8	0,20	***
N ingerido (% sms)	2,38	2,34	2,38	2,44	2,6	0,012	***
N ingerido (g/d)	473	463	501	506	461	4,28	***
N Heces (g/d)	181	175	168b	166	168	1,51	***
N Orina (g/d)	152	145	164	153	174	1,61	***
N Heces + Orina (g/d)	333	316	332	319	342	2,45	***
N Leche (% ingerido)	21,75	20,92	18,2	18,36	17,48	0,29	***
HERAS	EHEM	ETriEM	EHEM	EHAF	EHSC	et	Sig
N Heces (g/d)	187	177	162	162	168	2,21	***
N Orina (g/d)	147	146	167	166	181	2,03	***
N Heces + Orina (g/d)	334	324	328	328	321	2,52	NS
N Leche (% ingerido)	20,32	20,68	18,52	18,38	16,45	0,23	***
CNCPS	EHEM	ETriEM	EHEM	EHAF	EHSC	et	Sig
N Heces (g/d)	213	211	213	213	189	1,92	***
N Orina (g/d)	161	155	201	209	222	4,20	***
N Heces + Orina (g/d)	374	366	414	422	411	4,45	***
N Leche (% ingerido)	19,9	20,3	20,5	20,4	22,1	0,13	***
Significación							
	Heces		Orina	Heces+Orina		% N leche	
Experimento	***		***	NS		***	
Ensilado	***		***	***		NS	
Sistema	***		***	***		***	
Ensilado x Sistema	***		***	***		***	
Sistema							
	Observado	HERAS	CNCPS	et	Sig		
N Heces (g/d)	172	171	208	1,77	***		
N Orina (g/d)	158	162	189	2,0	***		
N Heces + Orina (g/d)	329	327	397	3,27	***		
N Leche (% ingerido)	19,3	18,9	19,7	0,15	*		

***p<0,001; ** p<0,01; *p<0,04; NS: no significativo a (P>0,05); et: error típico de la media

El N de la orina observado fue $158 \pm 1,6$ g N/d, sin diferencias significativas con el modelo HERAS ($161 \pm 2,0$ g) y mayor (P<0,001), respecto al CNCPS ($189 \pm 4,2$ g) (Tabla 1). En cualquier caso, para vacas alimentadas con raciones con 80% de forraje, e independientemente si es ensilado de hierba o hierba verde más ensilado, el 70% del N procedente de la orina es explicado por el modelo HERAS y, el 57% por el *Net Carbohydrate and Protein System*. No obstante, entre modelos, la correlación resultante fue ($r^2=0,90$).

El 70% del N excretado en leche es explicado por el modelo HERAS, sin relación significativa respecto al CNCPS. Posiblemente, el modelo HERAS diseñado para bajos consumos de concentrado y elevadas ingestiones de ensilado, al igual que

en el presente trabajo, represente una eficiencia en la utilización del N para la producción de leche más semejante. No obstante, las diferencias entre las estimaciones por el CNCPS y HERAS, son incuestionables, atribuido a las diferencias intrínsecas de partida en los sistemas de alimentación (intensivos vs semi-intensivos) de cada modelo.

CONCLUSIONES

Independientemente del tipo de conservante añadido al ensilado de hierba, el *Net Carbohydrate and Protein System* estima cantidades de N más elevadas que el modelo HERAS, tanto el N de las heces y de la orina, como el N total. Sin embargo, los porcentajes de N recuperado en leche son muy semejantes. Entre sistemas (CNCPS vs HERAS), la mejor relación se obtiene con el N procedente de la orina.

Tabla 4
Predicción de la excreción de N según sistema de valoración

	Y = a + bx	R ²	ES	n
<i>Observado vs HERAS</i>				
N heces (g/d)	Y = 78,88 + 0,54 HERAS s.e. ±10,28 ^{***} ±0,06 ^{***}	0,63	6,55	55
N orina (g/d)	Y = 50,5 + 0,66 HERAS s.e. ±10,08 ^{***} ±0,062 ^{***}	0,70	6,26	55
N heces + orina (g/d)	Y = 114,7 + 0,65 HERAS s.e. ±34,12 ^{***} ±0,104 ^{***}	0,45	12,9	55
N leche (% ingerido)	Y = -0,246 + 1,03 HERAS s.e. ±1,85 ^{***} ±0,098 ^{***}	0,70	1,15	55
<i>Observado vs CNCPS</i>				
N heces (g/d)	Y = 92,35 + 0,38 CNCPS s.e. ±0,38 ^{***} ±0,099 ^{***}	0,24	9,42	55
N orina (g/d)	Y = 102,8 + 0,289 CNCPS s.e. ±6,94 ^{***} ±0,036 ^{***}	0,57	7,53	55
N heces + orina (g/d)	Y = 209,2 + 0,30 CNCPS s.e. ±0,30 ^{***} ±0,067 ^{***}	0,29	14,7	55
N leche (% ingerido)	-	NS	-	55
<i>HERAS vs CNCPS</i>				
N heces (g/d)	Y = 36,38 + 0,64 CNCPS s.e. ±28,45 ^{NS} ±0,137 ^{***}	0,32	13,04	55
N orina (g/d)	Y = 74,07 + 0,46 CNCPS s.e. ±4,04 ^{***} ±0,021 ^{***}	0,90	4,38	55
N heces + orina (g/d)	Y = 197,9 + 0,32 CNCPS s.e. ±26,63 ^{***} ±0,067 ^{***}	0,33	14,74	55
N leche (% ingerido)	-	NS	-	55

***p<0,001; ** p<0,01; *p<0,05; **NS**: no significativo a (p>0,05); **e.s.**: error estándar del parámetro estimado; **n**: número de casos; **R²**: coeficiente de determinación

BIBLIOGRAFIA

- 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, 2003. CNCPS version 5.0. Model documentation. *Department of Animal Science, Cornell University* 288 pag.
- EDWARDS, N.; PARKER, W. 1994. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* **54**:267-277.
- MEHREZ, A.A.; ØRSKOV, E.R., 1977. *Journal Agri. Sci.*, Cambridge **88**: 645-650.
- MERTENS, D.R., 1997. *J. Dairy Sci.* **80**:1463-1481.
- MULLER, L.; KOLVER, E.; HOLDEN, L. 1995. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf., Rochester, NY. Cornell univ., Ithaca, NY.
- SALCEDO, G. 2000. *Invest. Agr.:Prod. Sanid. Anim.* Vol 15 (**3**):125-135.
- SALCEDO, G. 2006. Uso sostenible del nitrógeno en la alimentación de vacas lecheras. Consejería de Medio Ambiente del Gobierno de Cantabria. ISBN: 84-935016-1-1
- SAS, 1988. SAS/STAT User's Guide. SAS-Institute Inc.; Cary, NC.

EFFECTO DEL pH EN EL MEDIO DE CULTIVO SOBRE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LOS FORRAJES¹

Vargas¹, J.E., López, S., Giráldez², F.J., González, J. S.

Dpto. Producción Animal. Universidad de León. 24071 León. e-mail: s.lopez@unileon.es

¹ Departamento Sistemas de Producción, Universidad de Caldas, Colombia

² Estación Agrícola Experimental (CSIC), Finca Marzanas, 24346-Grulleros

Unidad Asociada al CSIC Grupo de Nutrición-Practicultura del Departamento de Producción Animal de la Universidad de León a través de la Estación Agrícola Experimental de León

INTRODUCCIÓN

El pH de la digesta en el rumen es uno de los factores que influye de manera más significativa sobre la población microbiana y el patrón de fermentación ruminal (Lana *et al.*, 1998) y, consecuentemente, sobre la degradación de la pared celular vegetal. La producción de ácidos grasos de cadena corta tiende a reducir el pH, mientras que su absorción a través de las paredes del rumen y la secreción de saliva con una elevada capacidad amortiguadora son los principales mecanismos para neutralizar dicho efecto y mantener el pH dentro de un rango estrecho. El pH puede variar en función del tipo de dieta que ingiere el animal.

Con los métodos *in vitro* para el estudio de la fermentación ruminal es posible un control preciso de las condiciones de incubación. Sin embargo, el estudio del efecto del pH en condiciones *in vitro* (Grant y Mertens, 1992) plantea ciertas dificultades, ya que para poder mantener cultivos de microorganismos ruminales es preciso que en el medio de cultivo se incluya una disolución tampón que amortigüe las variaciones de pH (Menke y Steingass, 1988) provocadas por la acumulación de los ácidos grasos de cadena corta.

El objetivo de este trabajo de investigación fue estudiar los efectos de la adición de diversos sustratos fermentables (cebada, heno) o distintas disoluciones amortiguadoras sobre el pH del medio de cultivo y sobre la digestibilidad *in vitro* de varios forrajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para las incubaciones se utilizó líquido ruminal obtenido de cuatro ovejas adultas provistas de cánula ruminal y alimentadas con heno de alfalfa. La recogida de muestras de digesta ruminal se realizó inmediatamente antes de la administración del alimento. El líquido ruminal fue filtrado y mezclado con el medio de cultivo en una proporción de 1:4 (v/v). El medio de cultivo empleado en el tratamiento control fue el descrito por Menke y Steingass (1988) que consiste en una mezcla de sales minerales en una disolución amortiguadora de bicarbonato (4 g (NH₄)HCO₃ y 35 g NaHCO₃ por litro de agua destilada). Esta disolución se añadió al medio de cultivo de forma que en la mezcla final de líquido ruminal diluido su proporción fue de 190 mL/L. La preparación del medio de cultivo y la adición de líquido ruminal se realizaron en condiciones de anaerobiosis.

Para la determinación de la digestibilidad *in vitro* se utilizó el procedimiento *in sacco* ANKOM. Las muestras se incubaron dentro de bolsitas confeccionadas con material sintético poroso (ANKOM F57). En cada bolsita se pesaron 250 mg de muestra. Las bolsitas se introdujeron en recipientes de vidrio de 4 L de capacidad (22 bolsitas en cada recipiente), añadiendo 2 L de líquido ruminal diluido. Los recipientes fueron introducidos en un incubador con agitación continua, manteniendo una temperatura constante de 39° C. Tras 24 h de incubación, las vasijas se introdujeron en un baño de hielo para interrumpir la fermentación. Posteriormente, se extrajo el líquido ruminal de cada recipiente, y las bolsitas fueron lavadas y aclaradas con agua destilada. A continuación, y utilizando el analizador de fibra de ANKOM, las bolsitas se sometieron a una extracción con detergente neutro a 100° C durante 1 h. Se realizaron varios aclarados con agua destilada y una final con acetona. Finalmente, las bolsitas se secaron en estufa a 65° C durante 48 h y, una vez pesadas, se determinó el residuo de incubación para calcular la digestibilidad *in vitro*.

¹ Proyecto de la Unión Europea REPLACE FP6-FOOD-CT-2004-506487

En todas las incubaciones se utilizaron cuatro alimentos comúnmente empleados en la alimentación de los rumiantes y que se caracterizan por poseer paredes celulares muy diversas tanto en su composición como en su estructura. Los cuatro forrajes utilizados fueron: heno de alfalfa (544 g FND/kg MS), heno de hierba (640 g FND/kg MS), paja de cebada (759 g FND/kg MS) y pulpa de remolacha (729 g FND/kg MS). En cada incubación, cada uno de los alimentos se incubó por quintuplicado.

Ensayo 1: En este ensayo las variaciones en el pH se provocaron añadiendo al medio de cultivo sustratos fermentables. La prueba se diseñó con tres tratamientos experimentales (un control y dos tratamientos), de forma que en cada tanda de incubación se utilizaron tres vasijas. La vasija control llevaba líquido ruminal diluido, mientras que en las otras vasijas se añadía directamente (no introducido en bolsitas) 1 g de harina de cebada o 1 g de heno de hierba finalmente molidos. En todos los casos se utilizó el medio de cultivo genérico descrito anteriormente, con la disolución amortiguadora de bicarbonato. La incubación se repitió en dos semanas distintas, de forma que para tratamiento se dispuso de 10 repeticiones (5 bolsitas en cada incubación x dos incubaciones).

Ensayo 2: En este ensayo las variaciones en el pH se provocaron sustituyendo la disolución amortiguadora del medio de cultivo por disoluciones de Mcllvaine con distintas proporciones de Na_2HPO_4 y ácido cítrico. La prueba se diseñó con cinco tratamientos experimentales. La vasija control llevaba líquido ruminal diluido con la disolución amortiguadora de bicarbonato. En las otras vasijas, al preparar el medio de cultivo se sustituía dicha disolución amortiguadora por el mismo volumen de una de las siguientes disoluciones de Mcllvaine (MI): MI180, MI360, MI420 y MI480, que contenían 180, 360, 420 y 480 ml/L de ácido cítrico y 820, 640, 580 y 520 ml/L de Na_2HPO_4 , respectivamente. En este caso se realizaron dos incubaciones, en la primera se incluyeron los tratamientos Control, MI180, y MI360, y en la segunda los tratamientos Control, MI180, MI420 y MI480.

Los resultados se analizaron mediante ANOVA con la tanda de incubación como factor de bloque y el tratamiento experimental como principal factor de variación. La comparación múltiple entre medias se realizó mediante el test de Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados del primer ensayo.

Tabla 1. Efecto de la adición de cebada o de heno al medio de cultivo sobre el pH y la digestibilidad *in vitro* de varios forrajes.

	pH		Digestibilidad <i>in vitro</i>			
	Inicial	Final	Heno de alfalfa	Heno de hierba	Paja de cebada	Pulpa de remolacha
Control	6,97	7,00	0,496	0,446 a	0,378 a	0,709 a
Heno	7,00	6,70	0,495	0,436 a	0,371 a	0,706 a
Cebada	7,00	6,60	0,485	0,408 b	0,329 b	0,637 b
ESD			0,0120	0,0107	0,0113	0,0180
P =			0,491	0,002	<0,001	<0,001

^{ab} Medias con superíndices distintos en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

EED = Error estándar de la diferencia. P = nivel de significación estadística

La fermentación tanto de la cebada como del heno provocó un descenso apreciable del pH final en el medio de cultivo. A pesar de este descenso en el pH final del medio, no hubo diferencias entre tratamientos en la digestibilidad *in vitro* del heno de alfalfa. Por otra parte, al añadir cebada al medio de cultivo se observó una disminución significativa en la digestibilidad *in vitro* de los otros tres sustratos con respecto al control. Sin embargo, esta disminución no se observó cuando se añadió un sustrato fibroso (heno). Estos resultados parecen indicar que tanto el pH como el tipo de sustrato (almidón, carbohidratos estructurales) afectan a la población microbiana en el medio de cultivo, al patrón de fermentación y a la digestibilidad de los sustratos.

Los cambios del pH del medio provocados al utilizar distintas combinaciones del buffer citrato:fosfato de McIlvaine tuvieron un efecto significativo sobre la digestibilidad *in vitro* de los forrajes (Tabla 2). Con todas las disoluciones el pH se mantuvo relativamente constante (variaciones de una décima) durante las 24 h de incubación. En todos los casos, el descenso del pH provocó un descenso lineal de la digestibilidad *in vitro*, siendo este descenso más marcado en el caso de la paja de cebada y de la pulpa de remolacha.

Tabla 2. Efecto de la adición de distintas disoluciones amortiguadoras de McIlvaine al medio de cultivo sobre el pH y la digestibilidad *in vitro* de varios forrajes.

	pH		Digestibilidad <i>in vitro</i>			
	Inicial	Final	Heno de alfalfa	Heno de hierba	Paja de cebada	Pulpa de remolacha
Control	7,00	7,05	0,507 a	0,451 a	0,407 a	0,702 a
Buffer MI180	6,55	6,45	0,525 a	0,428 ab	0,286 b	0,545 b
Buffer MI360	6,30	6,40	0,520 a	0,402 b	0,284 b	0,468 c
Buffer MI420	5,90	6,00	0,451 b	0,314 c	0,152 c	0,407 d
Buffer MI480	5,80	5,90	0,450 b	0,320 c	0,142 c	0,406 d
EED			0,0180	0,0134	0,0190	0,0175
<i>P</i> =			0,013	<0,001	<0,001	<0,001

^{abcd} Medias con superíndices distintos en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

EED = Error estándar de la diferencia. *P* = nivel de significación estadística

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GRANT, R.J. & MERTENS, D.R. 1992. Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, **75**: 1581-1587.
- LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. & VAN AMBURGH, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, **76**: 2190-2196.
- MENKE, K.H. & STEINGASS, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, **28**: 7-55.

SELECCIÓN DE ADITIVOS FITOGÉNICOS PARA REDUCIR LA METANOGÉNESIS RUMINAL¹

Bodas, R.¹, López, S., Fernández, M., García-González, R., Wallace, R.J.², González, J.S.
Dpto. Producción Animal. Universidad de León. 24071 León. e-mail: s.lopez@unileon.es

¹ ETS Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia.

² Rowett Research Institute. Aberdeen (Reino Unido)

INTRODUCCIÓN

En la última década se ha intensificado la investigación sobre el posible uso de plantas medicinales y sus derivados como aditivos alternativos a los antibióticos, para mejorar la eficiencia digestiva de los alimentos, así como el bienestar y el rendimiento productivo de los animales (Greathead, 2003). Este ha sido un tema de investigación prioritario en los últimos programas marco de I+D de la Unión Europea (UE). En este contexto, el proyecto de investigación Rumen-Up, financiado por la UE, tenía como principal objetivo el descubrimiento de especies vegetales o aditivos fitogénicos con los que fuese posible modificar la fermentación ruminal para obtener determinados efectos, tales como la reducción del número de protozoos, la inhibición de la proteólisis o la disminución de la formación de metano. El interés de dichos efectos es indudable por sus beneficios económicos y medioambientales (Teferedegne, 2000).

En una primera fase, la selección de posibles candidatos que pudiesen inducir alguno de los efectos pretendidos se realizó mediante ensayos *screening*, basados en pruebas *in vitro* sencillas, selectivas, de fácil interpretación y de bajo coste que tienen una utilidad indiscutible con objeto de probar un amplio número de candidatos en un corto espacio de tiempo (Borris, 1996).

En este artículo se presentan los resultados obtenidos en una prueba de *screening* en la que se ensayaron 450 especies vegetales como posibles aditivos fitogénicos para reducir la producción de metano en la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de las distintas especies de plantas fueron proporcionadas por los grupos participantes en el proyecto Rumen-Up (Rowett Research Institute, Universidad de Hohemheim, Universidad de Reading, Alltech, Crina y Universidad de León). Para su selección se utilizó la información disponible sobre todas y cada una de estas especies en la bibliografía, así como la aportada por especialistas en botánica. La mayoría de las muestras fueron recogidas directamente en el campo, aunque algunas de ellas fueron adquiridas en establecimientos especializados (en particular algunas plantas medicinales o especies comercializadas para su uso en fitoterapia y alimentación humanas). La lista de las especies vegetales que constituyeron esta colección está disponible en la siguiente dirección de *internet*: http://www.rowett.ac.uk/rumen_up/. Las plantas o partes de plantas fueron secadas en estufa a 40° C y posteriormente molidas en molino de martillos de tipo Culatti por malla de 1 mm y conservadas en envases herméticos y aislados de la luz.

Los cultivos *in vitro* se llevaron a cabo en viales de vidrio de 120 ml. El sustrato de fermentación empleado fue una mezcla de heno de alfalfa (500 g/kg), heno de gramíneas (400 g/kg) y cebada (100 g/kg), finamente molida y homogeneizada en molino de martillos tipo Culatti (malla de 1 mm). La composición química de esta mezcla fue la siguiente (por kg de MS): 921 g MO, 450 g FND y 133 g PB.

Para los cultivos discontinuos de microorganismos del rumen se empleó el medio líquido descrito por Menke y Steingass (1988), sin tripticasa. Este medio se mantuvo a 39° C y fue reducido mediante gaseado continuo con CO₂. El líquido de rumen empleado como inóculo se obtuvo de ovejas adultas de raza merina, provistas de una cánula ruminal y alimentadas con heno de alfalfa. Una vez obtenido y filtrado el líquido ruminal se mezcló en el medio de cultivo, previamente preparado, en proporción 1:4 (v:v).

¹ Proyecto de la Unión Europea QLK5-CT-2001-00992 (Rumen-Up)

Se incubaron tres viales por cada aditivo a ensayar. En cada vial se pesaron 450 mg de materia seca del sustrato y la cantidad correspondiente de aditivo (50 mg) y se dosificaron 50 ml de líquido ruminal diluido (10 ml líquido ruminal + 40 ml medio de cultivo). En cada tanda de incubación se incluyeron los correspondientes viales control, que contenían 450 mg de MS de sustrato sin aditivo. Los parámetros medidos al cabo de 24 h de incubación fueron los siguientes: producción de gas de fermentación a partir del aumento de presión registrado en el espacio de cabeza del vial (se utilizó un transductor); concentración de metano en el gas y de ácidos grasos volátiles (AGV) en el medio de cultivo (ambos mediante cromatografía de gases) y degradación de MS del sustrato una vez que todo el contenido de los viales fue filtrado en crisoles de placa porosa. Las producciones (al cabo de 24 h de incubación) de gas de fermentación, metano y AGV se expresaron en mmol por g de MS incubada.

Las comparaciones se establecieron, para cada uno de estos parámetros, entre los valores medios obtenidos de los tres viales que contenían cada aditivo con los valores medios de los viales control de la tanda de incubación correspondiente. La comparación entre medias y el nivel de significación estadística se estableció mediante un test *t*-Student. El efecto de cada planta sobre un determinado parámetro de fermentación o degradación de sustrato se cuantificó como la diferencia entre el valor medio de los viales con aditivo y el de los viales control (aumento o disminución), expresada como porcentaje del valor medio registrado en los viales control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra el efecto de la adición de las 450 plantas ensayadas sobre el contenido en metano en el gas de fermentación. Dicho efecto se expresa como porcentaje de aumento o disminución relativo con respecto al control. La mayoría de los puntos se encuentran en el intervalo $\pm 10\%$ (entre un aumento y una disminución de un 10%). Puede observarse que hay un número importante de puntos que se sitúan por debajo del 10%, indicando que éstas son las muestras que potencialmente pueden provocar un efecto interesante sobre la producción de metano.

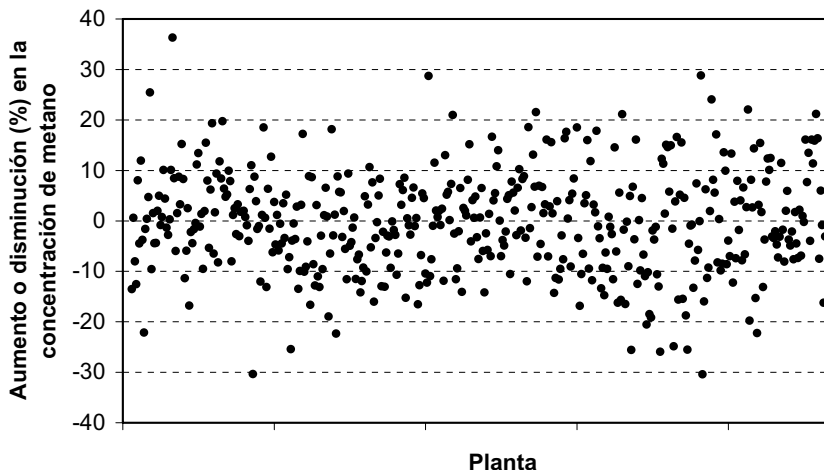


Figura 1. Efecto sobre el contenido de metano en el gas de fermentación.

En la Figura 2 se muestra la distribución de frecuencias de las 450 plantas ensayadas teniendo en cuenta el efecto observado sobre la producción de metano tras 24 h de fermentación *in vitro*. Las frecuencias, que son mayores en el centro (plantas con poco o ningún efecto) y se van haciendo menores hacia los extremos de la gráfica (plantas que causaron incrementos o disminuciones en la producción de metano), siguieron una

distribución similar en todos los parámetros estudiados. De todas las plantas estudiadas, doce de ellas (un 2,6% del total) tuvieron un efecto depresor de la producción de metano superior al 20% (en la gráfica, valores menores de -20).

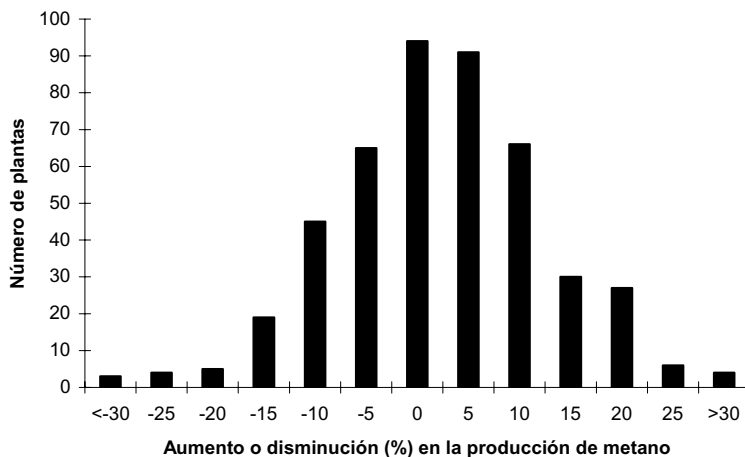


Figura 2. Histograma del efecto sobre la producción de metano tras 24 h de fermentación con respecto al control.

La actividad y concentración de los compuestos activos de las plantas puede verse afectada por diversos factores, tales como las condiciones climatológicas, el lugar de recogida o la época del año (Wink, 1999). Asimismo, dada la naturaleza de las pruebas *screening*, es posible que se detecten falsos positivos, por lo que centramos nuestra atención en aquellas muestras que, en principio, habían provocado una disminución acusada (superior al 20%) en la producción de metano. Partiendo de esta información, se examinaron los efectos de la adición de estas plantas sobre otros parámetros de fermentación (degradación de sustrato, producción de AGV) para descartar aquellas especies que pudieran tener un efecto inhibitorio inespecífico de la fermentación ruminal. A partir de los resultados obtenidos en la prueba de *screening*, se seleccionaron seis especies vegetales que mostraron un efecto anti-metanogénico significativo sin inhibir la fermentación de sustrato. Estas especies fueron *Carduus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Quercus robur*, *Rheum nobile* y *Salix caprea*. Los resultados de investigación que demuestran sus efectos sobre la metanogénesis ruminal están protegidos por la patente WO/2005/099729.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borris, R.P., 1996. Natural products research: Perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacol.* 51, 29-38.
- Greathead, H., 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 279-290.
- Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, 7-55.
- Teferedegne, B., 2000. New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 59, 209-214.
- Wink, M., 1999. Introduction: biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites. In: Wink, M. (Ed.), *Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology*, Sheffield Academic Press, Sheffield, U.K., pp. 1-16.

FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* EN PRESENCIA DE MONENSINA: EFECTO DE LA ADAPTACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS RUMINALES DEL INÓCULO A LA MONENSINA*

Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Giraldo, L.A., Ramos, S., Martínez M.E. y Carro, M.D.¹
Departamento de Producción Animal, Universidad de León, 24071 León. correo electrónico: mdcart@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Los cultivos no renovados de microorganismos ruminales se han utilizado ampliamente en los últimos años como un sistema *in vitro* útil para investigar los efectos de diferentes aditivos sobre la fermentación ruminal (Carro *et al.*, 2005). Entre los factores que pueden afectar a la respuesta observada destaca por su importancia las características del fluido ruminal que se utiliza como inóculo para los cultivos. En este sentido, existe cierta controversia sobre si el hecho de que el inóculo haya estado en contacto con el aditivo que se investiga puede afectar a los resultados obtenidos. El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de dos dosis de monensina sódica sobre la fermentación ruminal *in vitro* de un sustrato con un elevado contenido en concentrado cuando se utilizó como inóculo fluido ruminal de terneros en cebo que habían recibido monensina sódica en el pienso o que no habían recibido ningún aditivo. El experimento se llevó a cabo en el año 2005, antes de la entrada en vigor de la prohibición de utilización de monensina sódica como aditivo en la alimentación de los terneros en cebo.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un sistema de cultivos discontinuos de microorganismos ruminales. Como sustrato de incubación se utilizó una mezcla 85:15 de concentrado y paja de cebada, que contenía 356 de fibra neutro detergente y 158 g de proteína bruta/kg de materia seca (MS). El fluido ruminal se obtuvo de 8 terneros, 4 de los cuales habían recibido monensina sódica en el pienso (30 ppm) durante cuatro meses antes de obtener el fluido ruminal. El contenido ruminal se obtuvo tras el sacrificio de los animales en el matadero y se transportó en termos al laboratorio, dónde fue filtrado antes de su procesado.

Para la incubación se utilizaron botellas de vidrio de 120 ml de capacidad y en el interior de cada una se pesaron 400 mg de MS de sustrato. Los tratamientos experimentales fueron control (no monensina) y monensina a concentraciones de 4,8 (MB) y 24 (MA) mg/l. La concentración baja de monensina correspondió a la cantidad que recibían los terneros, asumiendo un volumen ruminal de 50 l para terneros de 350 kg de peso que ingerían diariamente 8 kg de pienso, y la concentración alta fue 5 veces mayor. Para la dosificación de la monensina se prepararon soluciones en etanol y se dosificaron 50 µl de la disolución correspondiente en cada botella. La dosificación se realizó inmediatamente antes del llenado de las botellas con 40 ml de una mezcla 1:4 (vol:vol) del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970) y de fluido ruminal. La dosificación de la mezcla en las botellas se realizó en condiciones de anaerobiosis (gaseando continuamente con CO₂) y manteniendo una temperatura de 39°C. Tras el llenado, las botellas se cerraron herméticamente con un tapón de caucho y cápsulas de aluminio y se colocaron en un incubador a 39°C. Una vez transcurridas 17 horas de incubación (equivalente a un ritmo de paso de 0,06/h), se midió la cantidad de gas producido en cada botella y se tomó una muestra en un tubo de vacío para el análisis de la concentración en metano. A continuación, las botellas se abrieron, se midió el pH de su contenido y se tomaron muestras para analizar la concentración en ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco y lactato. Finalmente, el

* Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (PROFIT-FIT060000200511) y el CDTI (050617).

contenido de cada botella se filtró en crisoles previamente pesados para determinar la desaparición de MS del sustrato.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza que incluyó como efectos fijos el tipo de inóculo (adaptado a la monensina (**IN-A**) y sin adaptar (**IN-C**)), la dosis de monensina y la interacción inóculo x monensina. Las réplicas correspondientes al inóculo de cada animal se consideraron como un efecto aleatorio. Los análisis se llevaron a cabo con el PROC MIXED del programa SAS (versión 8.2, SAS Inst. Inc., Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de los tratamientos sobre las variables determinadas se muestran en la Tabla 1. Los resultados se expresan como valores ponderados, considerando siempre un valor de 100 para el valor obtenido para cada inóculo cuando se incubó el sustrato en ausencia de monensina (tratamiento control).

Tabla 1. Efecto de la dosis de monensina (MB y MA) y del tipo de inóculo (**IN-C** y **IN-A**) sobre la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y metano, las concentraciones de amoníaco y lactato, las relaciones metano/AGV y acetato/propionato (Ac/Pr), el porcentaje de metano en el gas producido (%metano) y la desaparición de materia seca (DMS) tras la fermentación ruminal *in vitro* de un sustrato con un alto contenido en concentrado durante 17 horas (n=4)¹.

	MB		MA		e.e.d. ³	P = ²		
	IN-C	IN-A	IN-C	IN-A		IN	DM	INxDM
pH	99,9	99,7	100	100	0,31	0,932	0,452	0,517
Total AGV	95,3	100	91,8	91,7	2,21	0,562	0,009	0,175
Acetato	94,0	97,9	87,7	86,2	2,77	0,834	0,004	0,216
Propionato	113	115	114	120	4,7	0,550	0,391	0,546
Butirato	56,2	74,9	53,3	62,4	4,30	0,128	0,045	0,166
Otros AGV ⁴	81,1	98,3	75,4	82,4	6,09	0,310	0,046	0,281
Metano	75,7	89,8	61,6	73,0	5,05	0,049	0,005	0,728
Amoníaco	105	101	88,9	94,9	1,39	0,760	0,001	0,002
Lactato	111	148	116	145	5,7	0,213	0,850	0,385
Ac/Pr	83,3	85,0	76,9	71,9	2,61	0,614	0,002	0,125
Metano/AGV	79,4	90,1	66,8	80,3	6,12	0,115	0,041	0,759
% metano	78,3	94,1	67,0	79,2	5,91	0,036	0,020	0,673
DMS	94,5	96,7	82,4	95,1	3,93	0,072	0,050	0,109

¹ el inóculo control (**IN-C**) corresponde a terneros que no habían recibido previamente monensina en el pienso y el inóculo adaptado (**IN-A**) a terneros que habían consumido monensina (30 ppm) durante 4 meses. Los resultados se expresan de forma ponderada al valor obtenido para las incubaciones realizadas en ausencia de monensina con cada tipo de inóculo. MB: 4,8 mg monensina/l; MA: 24 mg monensina/l.

² IN: inóculo; DM: dosis de monensina; INxDM: interacción inóculo x monensina.

³ error estándar de la diferencia

⁴ calculados como la suma de isobutirato, isovalerato y valerato.

El contacto previo de los microorganismos ruminales con la monensina no afectó (valores de P entre 0,115 y 0,834) a la mayoría de las variables determinadas. Únicamente se observó que la reducción de la producción de metano y del contenido en metano del gas producido debida a la adición de monensina a los cultivos *in vitro* fue menor (P=0,049 y 0,036, respectivamente) para el **IN-A** que para el **IN-C**. Mientras que para el **IN-A** el

tratamiento con monensina ocasionó una disminución de la producción de metano hasta el 81,4% del valor obtenido para el control (valor medio para MB y MA), la reducción bajó hasta el 68,7% del valor del control para el **IN-C**. De forma similar, la proporción de metano en el gas producido correspondió al 86,7% de la observada en el control para el inóculo **IN-A**, y al 72,7% para el inóculo **IN-C**. Estos resultados podrían indicar que las arqueas metanogénicas del fluido ruminal de los terneros que recibieron monensina sufrieron un proceso de adaptación que redujo su sensibilidad a la monensina. De hecho, en trabajos previos se ha observado que la reducción de la producción de metano que se observa en rumiantes que reciben monensina en su dieta no se mantiene un tiempo prolongado, sino que al cabo de unas dos semanas de administración de la monensina la producción de metano recupera los niveles iniciales en terneros alimentados con dietas a base de grano o de forrajes (Johnson y Johnson, 1995; Sauer *et al.*, 1998). Asimismo, se observó una tendencia ($P=0,072$) a que la reducción de la DMS que ocasionó el tratamiento con monensina fuese menor para el **IN-A** que para el **IN-C**, si bien este efecto se observó únicamente para la dosis alta de monensina (reducciones hasta el 95,1 y 82,4% de los valores control para el **IN-A** y el **IN-C**, respectivamente).

El tratamiento con monensina provocó un aumento de la producción de propionato y una disminución de la producción de acetato y butirato y de la relación acetato:propionato. Busquet *et al.* (2005) y Castillejos *et al.* (2006) observaron efectos similares en fermentadores de flujo continuo que recibían diariamente una dosis de monensina equivalente a 12,5 y 10 mg/l, respectivamente. Los resultados de nuestro estudio revelan que dosis menores de monensina (4,8 mg/l) también pueden ocasionar estos efectos. Cuando se compararon ambas dosis de monensina, se observó que el aumento de la dosis de 4,8 a 24 mg/l acentuó la reducción de la producción de acetato ($P=0,009$), butirato (0,045) y metano ($P=0,005$), pero no afectó significativamente a la cantidad de propionato ($P=0,391$). Por otra parte, la interacción inóculo x dosis de monensina no fue significativa (valores de P entre 0,109 y 0,759) para ninguna de las variables estudiadas (con excepción de la concentración de amoníaco), lo que indicaría que la respuesta al tipo de inóculo no se vio afectada por la dosis de monensina en los cultivos *in vitro*.

Los resultados de este estudio indican que la utilización de fluido ruminal de terneros que habían recibido monensina durante un período de tiempo prolongado o de otros que no habían recibido este aditivo como inóculo para estudiar los efectos de la monensina sobre la fermentación ruminal *in vitro* no afectó significativamente a los resultados obtenidos, excepto a la producción de metano. Estos resultados sugieren que las arqueas metanogénicas se habrían adaptado a la monensina, mientras que esta adaptación no se habría producido en otros microorganismos ruminales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P.W., Kamel, C. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flor continuous culture. *Journal of Dairy Science*, 88, 2508-2516.
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Tejido, M.L. 2005. Using the *in vitro* gas production technique to test feed additives: effects of correcting values for different blanks. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 173-184.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *Journal of Dairy Science*, 89, 2649-2658.
- Goering, M.K., Van Soest, P.J. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv., USDA. Washington DC.*
- Johnson, K.A., Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 2483-2492.
- Sauer, F.D., Fellner, V., Kinsman, R., Kramer, J.K.G., Jackson, H.A., Lee, A.J., Chen, S. 1998. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. *Journal of Animal Science*, 76, 906-914.

LACTACIÓN INDUCIDA CON O SIN RESERPINA EN CABRAS LECHERAS NULÍPARAS

Salama, A.A.K., Caja, G., Albanell, E., Carné, S., Casals, R., Duch, X.
Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.
ahmed.salama@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Smith y Schanbacher (1973) propusieron un protocolo para inducir la lactación en vacuno lechero mediante la inyección de estradiol y progesterona durante 7 d consecutivos. En comparación a lo que ocurre durante la gestación, el crecimiento mamario resultante de la inducción de lactación no se considera suficiente. Como consecuencia de ello, la lactaciones inducidas tienen un éxito moderado (58-80%) y la cantidad de leche producida es muy variable (50-106% de una lactación natural) en vacas (Smith y Schanbacher, 1973) y ovejas (Head *et al.*, 1980). En el caso del caprino, la inducción de la lactación ha recibido poca atención. Los primeros intentos en caprino (Hart y Morant, 1980) propusieron un mayor tiempo de tratamiento hormonal (35 a 140 d), lo que no resulta práctico ni económico. Chilliard *et al.* (1986) aplicaron el protocolo de Smith y Schanbacher (1973) en cabras lecheras e indicaron que la cabras inducidas produjeron sólo el 55% de la leche producida por cabras control en lactación natural. Pese a los avances conseguidos actualmente en distintos aspectos de la biología de la lactación, no existen estudios que apliquen protocolos mejorados para inducir lactación en caprino.

El objetivo de este trabajo es evaluar un protocolo de inducción mejorado, mediante la inclusión de reserpina, un alcaloide obtenido de la raíz de la *Rauwolfia spp.*, que se fija permanentemente a las vesículas de los neurotransmisores y que ha sido utilizado desde antiguo para combatir la hipertensión. La reserpina tiene además una conocida acción de inducción de la secreción de prolactina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se indujo la lactación en 14 cabras nulíparas de raza Murciano-Granadina (17.3 ± 0.1 meses de edad y 37.5 ± 1.0 kg PV) mediante la inyección de 17β -estradiol (0.5 mg/kg PV) y progesterona (1.25 mg/kg PV). Las dosis por animal se dividieron en 2 aplicaciones diarias (8.00 y 18.00 h) que fueron aplicadas en los días 1 a 7.

Como tratamiento experimental, a la mitad de las cabras se les inyectó i.m. 1 mg/d de reserpina (RES; n = 7) y, a la otra mitad, la misma cantidad de diluyente como control (CON; n = 7). Las inyecciones se realizaron a las 9.00 h de los días 12, 14, 16, 18 y 20.

Finalmente, a todas las cabras se les inyectó s.c. 10 mg/d con dexametasona a las 9.00 h de los días 18 a 20. El ordeño se empezó el día 21 de iniciado el protocolo de inyección y se prolongó durante 120 d (14 sem.).

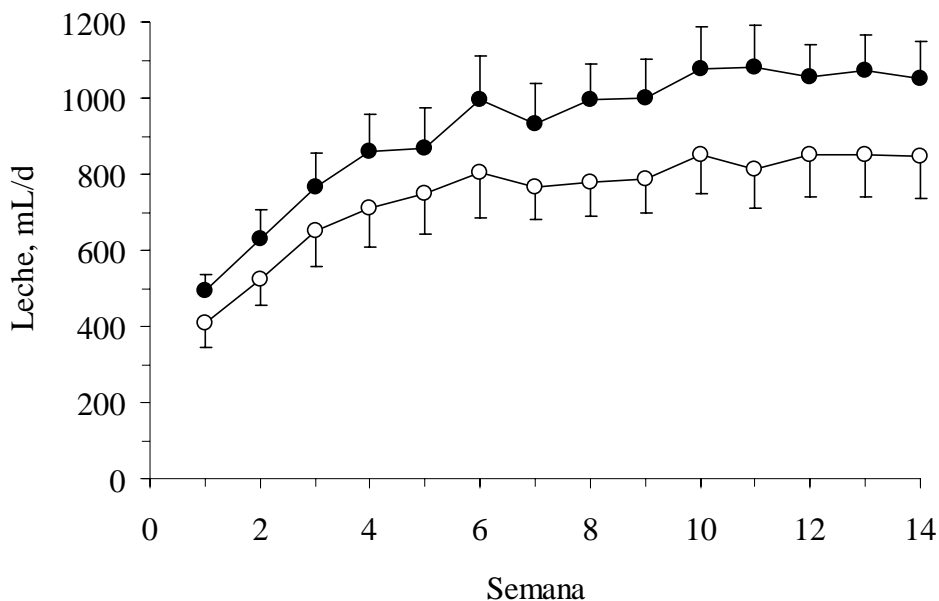
Todas las cabras experimentales fueron sometidas a un efecto macho y expuestas a monta natural en mayo, conjuntamente con el resto de cabras no tratadas en el rebaño. La producción de leche se controló diariamente durante las primeras 3 sem., y después en 2 d consecutivos semanalmente hasta la semana 14. Se recogieron muestras de leche para analizar su composición con frecuencia diaria durante la primera semana, semanal de la semana 2 a 8, y quincenal de la semana 10 a 14. La composición de leche (sólidos totales, grasa, proteína, caseína, proteína del suero y nitrógeno no proteico) se analizó mediante un equipo NIR (Foss NIRSystems 5000, Hillerød, Dinamarca).

Los datos fueron analizados con el PROC MIXED de SAS v.9.1 (SAS Inst., Cary, N. Carolina, USA) para medidas repetidas. El modelo estadístico incluyó los efectos del tratamiento (RES vs. CON), la semana de lactación y las interacciones de primer orden.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dosis de estradiol y progesterona utilizados en este estudio fueron elevadas, 5 veces mayores a las utilizadas en vacuno lechero (Smith y Schanbacher, 1973; Kensinger *et al.*, 1979), pero similares a las utilizadas previamente en cabras (Chilliard *et al.*, 1986) y ovejas (Head *et al.*, 1980). Sin embargo, la relación estradiol : progesterona en el estudio actual (1 : 2.5) es la misma que la utilizada en vacas y ovejas por los autores citados.

Figura 1. Producción de leche en cabras nulíparas con lactación inducida con (●; n = 7) o sin (○; n = 7) reserpina.



No se observaron diferencias en la producción de leche (Figura 1) obtenida en el primer ordeño (d 21) entre CON y RES (600 ± 94 vs. 725 ± 87 mL; $P = 0,347$). Asimismo, la producción de leche en la semana 1 a 7 no varió entre CON y RES (659 ± 81 vs. 793 ± 75 mL/d; $P = 0,235$). Sin embargo, la diferencia entre grupos aumentó al avanzar la lactación, de forma que, entre la semana 8 y 14, las cabras RES (1052 ± 94 mL/d) produjeron un 28% más de leche que las CON (825 ± 100 mL/d; $P < 0,10$).

El pico de producción en ambos grupos se detectó en la semana 10 y fue diferente entre cabras CON y RES (850 vs 1079 mL/d; $P = 0,084$). En el caso de las cabras del mismo rebaño se observó el pico de lactación entre las semanas 3 y 4 de lactación (Salama *et al.*, 2003). El pico retrasado observado en el caso de la lactación inducida puede ser en parte debido a la continuación del crecimiento mamario después de haberse iniciado la lactación. Asimismo, el pico de producción se obtuvo entre las 9 y 11 sem. en vacuno lechero (Kensing *et al.*, 1979), la 7 sem. en ovino (Head *et al.*, 1980), y la 9 sem. en caprino (Chilliard *et al.*, 1986). El pico logrado en las cabras nulíparas con lactación inducida en nuestro estudio alcanzó sólo el 55% del pico obtenido en las cabras primíparas contemporáneas del mismo rebaño (Salama *et al.*, 2003).

Si se utiliza como criterio de éxito de la lactación inducida el alcanzar un pico de $\geq 0,5$ L/d, el 100% de las cabras se indujeron a lactar. Cuando este criterio se aumentó a ≥ 1 L/d, los porcentajes de éxito fueron 29 y 71% en los tratamientos CON y RES, respectivamente. Collier *et al.* (1977) observaron que el porcentaje de éxito en vacas, definido como lograr un pico de 9 kg/d, fue 55 y 100% en las vacas control y tratadas con reserpina, respectivamente. Para el conjunto de los 2 grupos, la producción de leche en la semana 1 correlacionó positivamente ($P < 0,001$) con la producción de leche al pico ($r = 0,87$) y el índice de éxito definido como lograr un pico de 1 L ($r = 0,84$).

Se observaron elevados contenidos de sólidos totales (17,0%), grasa (5,7%), proteína (6,6%), caseína (4,0%), y proteína del suero (2,6%) en la leche del primer día de lactación. A partir del d 3 los valores de composición de leche fueron normales, aunque el riesgo de

presencia de residuos de hormonas aconsejó su destrucción. Durante todo el experimento, no se detectó ninguna diferencia respecto a la composición de leche (Tabla 1), excepto el N no proteico que fue menor en RES que en CON (0,41 vs. 0,48%; $P < 0,05$).

Tabla 1. Composición de leche en cabras lecheras nulíparas con lactación inducida con o sin reserpina.

Componente, %	Control (n = 7)	Reserpina (n = 7)	SED ¹	Efecto (P =)
Sólidos totales	13.9	13.6	0.2	0.158
Grasa	4.62	4.36	0.24	0.338
Proteína	4.29	4.21	0.16	0.639
Caseína	2.83	2.74	0.09	0.327
caseína, % de proteína	66.4	65.4	1.3	0.462
Proteína del suero	1.46	1.47	0.08	0.900
N no proteico	0.48	0.41	0.02	0.016

¹ Error estándar de la diferencia.

De las 14 cabras experimentales, solo 3 (1 RES y 2 CON) quedaron gestantes después de la monta (fertilidad del 21%). La anormalmente baja fertilidad observada no fue debida al macho utilizado, ya que este mismo macho montó otras 17 cabras del rebaño y 14 de ellas parieron (82% de fertilidad). El efecto negativo sobre la fertilidad detectado pudo ser debido a las dosis altas de estrógeno utilizadas para inducir la lactación. Erb *et al.* (1976) observaron que 88% de las vacas con lactación inducida desarrollaron folículos persistentes en los ovarios.

En conclusión, el tratamiento de estrógeno y progesterona utilizado durante 7 d fue eficiente para inducir la lactación en el 100% de las cabras nulíparas utilizadas, y el uso de reserpina mejoró el nivel de producción de leche. Sin embargo, la producción de leche obtenida fue solo la mitad de la producción normalmente observada en cabras primíparas contemporáneas en condiciones naturales. Este resultado, junto con la baja fertilidad a la cubrición en las cabras inducidas, indica la necesidad de la mejora del protocolo de inducción utilizado y limita su uso en la práctica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Chilliard, Y., Delouis, C., Smith, M. C., Sauvant, D. Morand-Fehr, P. 1986. Mammary metabolism in the goat during normal or hormonally-induced lactation. *Reprod. Nutr. Dev.* 26:607-615. • Collier, R. J., Bauman D. E., Hays, R. L. 1977. Effect of reserpine on milk production and serum prolactin of cows hormonally induced into lactation. *J. Dairy Sci.* 60:896-901. • Erb, R. E., Monk, E. L., Mollett, T. A., Malven, P. V., Callahan, C. J. 1976. Estrogen, progesterone, prolactin and other changes associated with bovine lactation induced with estradiol-17 β and progesterone. *J. Anim. Sci.* 42:644-654. • Hart, I. C., Morant, S. V. 1980. Roles of prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine in steroid-induced lactation in goats. *J. Endocrinol.* 84:343-351. • Head, H. H., Delouis, C., Terqui, M., Kann, G., Djiane, J. 1980. Effects of various hormone treatments on induction of lactation in the ewe. *J. Anim. Sci.* 50:706-712. • Kensinger, R. S., Bauman, D. E., Collier, R. J. 1979. Season and treatment effects on serum prolactin and milk yield during induced lactation. *J. Dairy Sci.* 62:1880-1888. • Salama, A. A. K., Such, X., Caja, G., Rovai, M., Casals, R., Albanell, E., Marin, M. P., Marti, A. 2003. Effects of once versus twice daily milking throughout lactation on milk yield and milk composition in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 86:1673-1680. • Smith, K. L., Schanbacher, F. L. 1973. Hormone induced lactation in the bovine. I. Lactational performance following injections of 17 β estradiol and progesterone. *J. Dairy Sci.* 56:738-743.

EFECTO DE LA DISTRIBUCIÓN DEL TIEMPO DE PASTOREO SOBRE LA EXCRECIÓN URINARIA DE DERIVADOS PÚRICOS EN OVEJAS LATXAS EN LACTACIÓN

Fernández, R.¹; Balcells, J.¹; Oregi, L. M.²; García-Rodríguez, A.²

1. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza Miguel Servet 177 50013. Zaragoza. E-mail: 2. Neiker, Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46, E-01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

En el manejo de la alimentación del ovino lechero en el País Vasco, al igual que ocurre en otras zonas de la cuenca atlántica, se compaginan la alimentación en pesebre con el pastoreo durante un número limitado de horas, que puede variar entre 4 y 7 al día. Además, al inicio y durante la primavera se concentra más del 60% de la producción lechera anual, y por ello durante este período la utilización del pasto tiene una importante incidencia productiva y económica.

Estudios previos (Perojo y Oregi, 2001) han demostrado la capacidad que tienen las ovejas para adaptar su comportamiento alimenticio al tiempo de pastoreo. Así, los animales incrementaron los tiempo de ingestión cuando se redujo su permanencia en la pradera (Perojo *et al.*2003).

A partir de estos resultados en el presente trabajo se plantea analizar si, además del período, la distribución del tiempo de pastoreo puede modificar la ingestión de pasto y su utilización ruminal. Adicionalmente, se determinará en que medida los parámetros anteriormente citados pueden verse modificados el nivel de inclusión de proteína en el concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 ovejas de raza Latxa (ecotipo Cara Negra), multíparas, en lactación y con un peso medio de $57,28 \pm 0,962$ kg. Los animales fueron divididos en dos lotes y sometidos a dos tipos de pastoreo, *Continuo*: los animales permanecieron en la pradera de forma continua durante 4 horas (de 10 a 14 h) y *Discontinuo*: en dos períodos de dos horas cada uno (de 10 a 12 y de 15 a 17 h, respectivamente). Cada lote a su vez fue dividido en dos sub-lotes de seis animales que recibieron, respectivamente, un 21 o un 15 % de proteína en el concentrado.

Los animales dispusieron de una pradera polifita compuesta mayoritariamente de ray-grass (*Lolium perenne*) dactylo (*Dactylis glometara*) y trébol (*Trifolium repens*) con la siguiente composición química: 19,14% MS; 13,46% PB; 48,62% FND; 32,34% FAD; 90,82% MO). Adicionalmente las ovejas fueron suplementadas en pesebre con 250 g de heno de alfalfa (88,66% MS; 15,22% PB; 49,96% FND; 44,93% FAD; 91,67% MO) y 550 g/d de un concentrado formulado en base a Torta Soja (5 o 25 %), Cebada (68 o 53 %) maíz (24 o 19 %) para conseguir un nivel de proteína del 21 o del 15%, respectivamente.

El aprovechamiento del pasto se determinó en dos períodos, del 26-28 de abril y del 10 al 12 de mayo. Tras cada periodo de pastoreo se procedió a realizar durante 7 días un balance de digestibilidad durante el cual se pretendió simular las condiciones de alimentación del periodo anterior.

La producción de proteína microbiana se consideró como un índice del aprovechamiento del pasto y esta fue estimada a partir de la excreción urinaria de DP.

En cada periodo experimental, la excreción urinaria de DP se determinó a partir de muestras de orina puntuales extraídas mediante sondas uretrales durante tres días consecutivos. Los muestreos se realizaron dos veces diarias, tras el ordeño (a la 8 y 17 h, respectivamente). La concentración urinaria de DP (alantoína, hipoxantina, xantina y ácido úrico) así como de la creatinina, se determinaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), siguiendo la técnica propuesta por Balcells *et al.* (1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso medio (57.3 ± 0.96 Kg) y la condición corporal al inicio de la experiencia se situaron en el rangos establecido para esta especie. Las variaciones en el peso vivo a lo largo de la experiencia se presentan en la Tabla 1. Los animales sometidos a un pastoreo continuo perdieron aparentemente mas peso que aquellos que pastaron de forma discontinua (-1.96 vs. 0.13 Kg) aunque las diferencias en ningún caso alcanzaron significación estadística (CV =6.3 %)

La producción media de leche registrada al inicio de la experiencia (1.19 l/d) fue descendiendo a medida que avanzaba el periodo de aprovechamiento del pasto (0.93 l/d al final de la experiencia) alcanzando dichas diferencias significación estadística ($P < 0.001$). Este descenso es similar al registrado en otros trabajos de diseño similar (Perojo *et al.* 2003) y estaría relacionado con la evolución natural de la curva de lactación y también con un cierto embastecimiento del pasto.

Tabla 1 Variación de peso, producción de leche y excreción urinaria de alantoína y derivados púricos totales (DP) en ovejas Latxas en lactación sometidas a diferentes tipos de pastoreo (continuo vs discontinuo) recibiendo piensos concentrados con dos niveles de inclusión de proteína (21%:Alto y 15 % Bajo). Las determinaciones se realizaron en dos periodos del aprovechamiento del pasto, del 26-28 de abril y del 10 al 12 de Mayo. Se presentan también las tasas Alantoína/creatinina(A/C) y Derivados púricos /Creatinina (PD/C) registrados en las muestras de orina correspondientes.

	PERIODO PASTOREO			TIPO PASTOREO		NIVEL PROTEÍNA		
	Abril	Mayo	E.S. ₁	Continuo	Discontinuo	Alta	Baja	E.S. ₂
Parámetros Productivos								
Peso	58.3	57.4	1.03	57.8	57.9	57.8	57.8	2.85
Δ Peso				-1.96	0.13	-0.93	-0.89	1.45
Producción Leche (ml/d)	1187	929	39.87	1059	1057	1068	1047	107.73
Excreción Urinaria (mmol/d)								
Alantoína	21,6 ^a	16,6 ^b	2,874	18,0	20,2	18,8	19,4	5,612
DP	25,1 ^a	19,8 ^b	3,049	21,4	23,6	22,1	22,8	6,504
A/C	3,33 ^a	2,55 ^b	0,478	2,54 ^a	3,34 ^b	3,08	2,80	0,487
DP/C	3,87 ^a	3,03 ^b	0,494	3,01 ^a	3,89 ^b	3,61	3,29	0,537

Índices diferentes implican diferencias estadística ($P < 0,05$)

La realización del balance de digestibilidad, posterior a la experiencia de pastoreo, permitió colecciones totales de orina y con ello determinar la excreción renal diaria de creatinina (C). En nuestro caso, la excreción media de creatinina fue de $315 \pm 16,1$ $\mu\text{mol/kg PV}^{0,75}$, y dicha excreción fue independiente del tratamiento experimental. A partir de la excreción diaria de creatinina y de la tasa alantoína/creatinina (A/C) determinada en las muestras puntuales de orina obtenidas en el período de pastoreo se pudieron calcular las excreciones diarias de Alantoína y DP de los animales en pastoreo (Tabla 1).

El aprovechamiento al comienzo de la primavera de un pasto de mejor calidad, más joven y menos embastecido, mejoró los niveles de síntesis de proteína microbiana en el compartimiento ruminal y ello se reflejó en una mayor excreción urinaria de alantoína, DP y en la relación de concentraciones de ambos compuestos en orina. Es cierto que los cambios en la composición corporal pueden modificar los niveles de excreción de creatinina (Van Niekerck *et al.* 1963) y con ello la relación DP/C, no obstante, la existencia de estas diferencias no pudo ser registradas en las pruebas de balance correspondientes (Fernández, 2005).

La tasa DP/C fue también sensible al tipo de pastoreo al que fueron sometidos los animales. Aquellas ovejas a las que se les permitió pastar de forma continua mostraron una menor tasa DP/C que aquellas en las que se dividió el tiempo de pastoreo (3.01 vs. 3.89; $P > 0.005$). No existen referencias previas que puedan avalar nuestros resultados pero la claridad de los mismo parece sugerir que existe una mejora en la producción microbiana en los animales sometidos a un manejo discontinuo.

Un manejo discontinuo podría permitir mantener unas condiciones ruminales más estables. Es decir, el consumo en una sola toma, y probablemente de forma voraz considerando el estado fisiológico de los animales, podría conllevar una falta de sincronización en la liberación ruminal de nutrientes que mejoraría con el manejo discontinuo.

La reducción del contenido de proteína bruta del concentrado no modificó los parámetros a estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Balcells, J., Guada, JA., Peiro, JM., Parker, DS. 1992 *J Chromatogr* **575**, 153-157
Fernández, R. 2005. Tesina de Licenciatura. Universidad de Zaragoza
Perojo, A., Oregui, L.M. 2001. *ITEA*, 22 (1) 262-264
Perojo A, García-Rodríguez A.y Oregui, LM. 2003. *First Joint Seminar FAO-CIHEAM sheep and goat nutrition in mountain and mediterranean pastures*. 65
Van Niekerk, BDH., Reid, J. T., Bensadoun, A., Paladines, O.L. 1963. *J. Nutr.* 79, 463-473.

LESIONES MACROSCOPICAS RELACIONADAS CON LA ACIDOSIS RUMINAL EN TOROS DE LIDIA.

¹ García, J.J.; ² Alonso, M.E.; ² Bartolomé; D.J.; ¹ Posado, R.; ² Gaudioso, V.

¹ Centro de Investigación del Toro de Lidia, Paseo de Canalejas, nº 77, 2º A.
37001, Salamanca. E-mail: gargarji@itacyl.es

² Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.
24071, León.

INTRODUCCION

En la actualidad, los problemas y patologías más comunes en el toro de lidia aparecen o están relacionados con la instauración de modernos sistemas de alimentación y engorde (Vaz Alonso-Moreno, 2002). La observación del cuadro clínico y sintomático, así como la investigación de las lesiones macroscópicas y microscópicas suelen coincidir con el diagnóstico patológico de una acidosis ruminal (Arriola, 1998; Gómez Peinado, 2001).

La acidosis se define como un estado patológico de acidez elevada de la sangre, que en los rumiantes se amplía para incluir situaciones de acidez en el rumen (Owens *et al.*, 1998). Suele presentarse con una primera fase de consumo brusco de carbohidratos de fácil fermentación, seguido de una fermentación rápida; y una segunda de absorción de ácidos a través de las papilas ruminales hacia la corriente sanguínea (Calsamiglia *et al.*, 2003).

Esta patología, muy frecuente en terneros de aptitud cárnica sometidos a cebo intensivo, puede presentarse de forma aguda y esporádica en un número limitado de animales, o de forma crónica. En la actualidad, esta forma crónica o subaguda supone un enorme problema económico en los cebaderos de terneros, ya que afecta a un gran número de individuos del rebaño y, a largo plazo, los efectos de la enfermedad repercuten de forma severa sobre los índices productivos (Vázquez *et al.*, 2005)

La acidosis ruminal es la responsable de la aparición de numerosas patologías en aquellos rumiantes que la padecen: abscesos hepáticos, úlceras gastrointestinales, laminitis, etc. (Arriola, 1998; Gómez Peinado, 2001; Calsamiglia *et al.*, 2003).

OBJETIVOS

Conocer la incidencia de la patología conocida como acidosis ruminal en el ganado de lidia y su relación con la aparición de lesiones anatomopatológicas en distintos órganos.

MATERIAL Y METODOS

La muestra del estudio esta formada por 212 reses de lidia, toros y novillos, lidiadas en ocho de las principales plazas de toros de Castilla y León. A la finalización del festejo, en el matadero al que eran trasladadas las reses, se realizaba una inspección visual de toda la canal y las vísceras, prestando especial atención a la posible existencia de signos clínicos macroscópicos relacionados con el padecimiento de una acidosis ruminal.

Las lesiones encontradas fueron agrupadas en las siguientes categorías:

- Lesiones hepáticas: únicamente lesiones macroscópicas: hepatitis purulenta y adherencias.
- Lesiones podales: fundamentalmente laminitis, manifestado por el sobrecrecimiento de pezuñas.
- Lesiones en la mucosa ruminal: ruminitis y úlceras gastrointestinales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lesiones hepáticas.

Un 25% de las reses (N=53) presentaron alteraciones macroscópicas a nivel hepático, diferenciándose, por un lado, la presencia de hepatitis purulenta con abscesos múltiples, en un 4% de las reses (N=8); y por otro, las adherencias de hígado con diafragma y de ambos con los pulmones, que presentaron un 21% de los animales (N=45). La aparición de adherencias entre diafragma e hígado está relacionada con la aparición de alteraciones sobre la superficie del hígado. Además de por un absceso, dicha alteración también puede deberse a cicatrices de trayectos parasitarios antiguos. De los abscesos encontrados se tomaron muestras para su posterior estudio microbiológico, confirmando el *Fusobacterium necrophorum* como principal causante de dicha patología en cinco de ellos.

Lesiones podales.

Del total de reses muestreadas, un 28% mostraron sobrecrecimiento del casco (N=58). Esta lesión es la manifestación clínica de una laminitis crónica, que se asocia al padecimiento de acidosis ruminales subclínicas.

Lesiones en la mucosa ruminal.

No encontramos ninguna úlcera a nivel del rumen, aunque si constatamos la separación y pérdida de la mucosa ruminal de la lámina propia de las papilas en varios casos. Un 82% de las reses (N=173) presentaron ruminitis caracterizada por una mucosa de tonalidad oscura, síntoma inequívoco de la existencia de una inflamación de la mucosa que recubre la pared ruminal y la consiguiente reparación del daño con tejido fibroso, todo ello con aumento del espesor de la capa cornea del epitelio estratificado ruminal (paraqueratosis).

Se dispone de poca información científica sobre las necesidades y manejo de la alimentación del toro de lidia en nuestro país, por ello suelen adaptarse los conocimientos existentes de otras razas, generalmente mejoradas para la producción de carne, a la hora de planificar las pautas alimenticias de una raza rústica cuya principal finalidad no es la producción de carne.

En los sistemas de cebo intensivo de terneros predominan las dietas basadas en piensos con un elevado porcentaje de cereales y un escaso aporte de productos fibrosos, lo cual implica la acumulación de almidones y azúcares altamente fermentables en el rumen. El único complemento forrajero que reciben los animales en las raciones habitualmente utilizadas en España es paja, pero el consumo es tan limitado que no puede contrarrestar los efectos de la administración de cantidades tan elevadas de alimento concentrado. Esta práctica nutricional no siempre es compatible con el fisiologismo ruminal, ya que la abundancia de carbohidratos no estructurales en el rumen se traduce en la síntesis de ácidos resultantes de la fermentación y de mucopolisacáridos de origen bacteriano que alteran la función normal del mismo. Por todo ello, la acidosis láctica ruminal ha de considerarse como una enfermedad productiva, que adquiere entidad a partir de la introducción de cereales en la ración (Vázquez *et al.*, 2005).

De los resultados obtenidos podría inferirse que actualmente, el manejo de la alimentación en las explotaciones de toro de lidia es muy similar al realizado en una explotación de vacuno de carne. Así, una vez separados en lotes de 8-10 animales,

los toros de saca son alojados en cercados pequeños y sometidos a un proceso de engorde a base de dietas ricas en carbohidratos, que suele iniciarse en los meses de verano u otoño del año anterior a su lidia (Compan *et al.*, 1998). Si a esto añadimos la escasa movilidad del animal durante esta fase o una planificación incorrecta de la gimnástica funcional a realizar por las reses, comprenderemos el origen del problema de acidosis ruminal con que el animal llega a la plaza en demasiadas ocasiones. En el caso del toro bravo, además de la indudable merma productiva, estas patologías pueden provocar una disminución de su aptitud para la lidia, léase falta de fuerza, caídas, etc. que redundaría en una pérdida de calidad del espectáculo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arriola, J. (1998). Acidosis ruminal en el toro de lidia (I). *Toro Bravo*, 13:30-33.
- Calsamiglia, S.; Ferret, A. 2003. Fisiología ruminal relacionada con la patología digestiva: acidosis y meteorismo. *Producción Animal*, 19:2-23.
- Compan, H.; Arriola, J. 1998. Acidosis ruminal en el toro de lidia (III). *Toro Bravo*, 15:30-33.
- Gómez Peinado, A. 2001. Acidosis ruminal y su incidencia en la lidia. Libro de ponencias de las "II Jornadas sobre Ganado de Lidia", 137-147. Universidad Pública de Navarra.
- Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J.; Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal Animal Science*, 76:275-286.
- Vaz Alonso-Moreno, F. 2002. La alimentación y su influencia en las caídas de los toros. Libro de ponencias del "IV Congreso Mundial Taurino de Veterinaria", pp. 53-61.
- Vázquez, P.; Pereira, V.; Hernández, J.; Castillo, C.; Méndez, J.; López-Alonso, M.; Benedito, J.L. 2005. Acidosis crónica en terneros: nuevas pautas de prevención. *Producción Animal*, 21: 4-15.

ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES CONTRACTILES DEL MUSCULO TRICEPS BRAQUIAL DE TOROS DE LIDIA DE DIFERENTES ENCASTES.

Bartolomé, D.J. ¹, Alonso, M.E. ¹, García, J.J. ², Posado, R. ², Picard, B. ³, Gaudio, V. ¹.

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071, León. E-mail: dp2dbr@unileon.es

²Centro de Investigación del Toro de Lidia, Paseo de Canalejas, nº 77, 2º A, 37001 Salamanca

³INRA, Equipo C2M, Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle (Francia)

INTRODUCCION

El músculo esquelético es el eslabón final de una cadena funcional encargada de transformar la energía química de los nutrientes en energía cinética. Para ello, debe contraerse con la fuerza y velocidad requerida y transmitirla a los tendones para que realice la actividad deseada (Córdova *et al.*, 2000). Sus características contráctiles y metabólicas están supeditadas a su funcionalidad, viéndose modificadas por factores de tan diversa índole como la genética, edad, rusticidad de la raza, alimentación, actividad física diaria o influencia hormonal (Micol *et al.*, 1997; Cassar-Malek, I. *et al.*, 1998; Hocquette *et al.*, 2000; Ortigues-Marty, I. *et al.*, 2002)

En las especies denominadas "atléticas" como el caballo, el perro o el camello, el estudio de la funcionalidad del músculo esquelético se ha realizado basándose en técnicas histoquímicas, bioquímicas y electroforéticas, que permiten caracterizar a los individuos en función del tipo de ejercicio para el que son más adecuados (Armstrong *et al.*, 1982; Essén-Gustavsson *et al.*, 1985). Sin embargo, a pesar del importante esfuerzo físico que los animales deben desarrollar durante la lidia, son muy escasas las incursiones científicas (Agüera *et al.*, 1998, 2001; Picard *et al.*, 2006) en la fisiología del ejercicio en esta raza.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue establecer los porcentajes de las diversas poblaciones fibrilares, esto es, I (lentas oxidativas), IIA (rápidas oxido-glicolíticas) e IIX (rápidas glicolíticas) en el músculo tríceps braquial del tercio anterior del toro bravo y, ya que el músculo tiene una fuerte determinación genética, comprobar la influencia del encaste al que pertenecen los animales sobre el porcentaje de cada uno de los tipos fibrilares antes descritos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron biopsias musculares en los mataderos a los que eran trasladadas las reses una vez finalizado el espectáculo en la plaza de toros. Las muestras fueron troceadas e introducidas en crioviales que, inmediatamente, eran conservados en nitrógeno líquido a -196 °C. Posteriormente, fueron transportadas hasta el laboratorio del equipo Crecimiento y Metabolismo Muscular de la Unidad de Investigación sobre Herbívoros del INRA de Clermont-Ferrand (Francia), procediéndose a su análisis. Las isoformas de la cadena pesada de miosina (MyHC), indicativas de las propiedades contráctiles: MyHC I, IIA e IIX, fueron separadas en función de su peso molecular por electroforesis SDS-PAGE según el protocolo descrito por Picard *et al.* (1999) y cuantificadas por densitometría.

Se han estudiado un total de 131 toros de lidia, machos, con edades comprendidas entre 3 y 5 años, pertenecientes a catorce ganaderías y seis encastes diferentes, y lidiados en las plazas de Salamanca, Valladolid y Palencia. En la Tabla I se exponen las ganaderías muestreadas, agrupadas por su encaste de procedencia (según RD 60/2001, de 26 de enero, sobre prototipo racial de la raza bovina de lidia).

Los resultados obtenidos se procesaron empleando el programa informático SPSS® versión 13.0 para Windows. Se consideraron significativas las diferencias con un valor de $P < 0,05$. Se aplicó el test de Newman-Keuls para estudiar los efectos de la ganadería, el encaste y la plaza.

Tabla 1. Encaste de procedencia de las ganaderías muestreadas.

Ganaderías	Encaste
VA, PSL, LB, AT	ATANASIO
CA, AS	MURUBE
DH, MO, EP, GJ,	DOMECQ
FU, GU	TORRESTRELLA
NU	NUÑEZ
MI	MIURA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados medios, obtenidos de la separación por electroforesis SDS-PAGE, de las tres isoformas de MyHC presentes en el músculo de toro de lidia, expresados en porcentaje, son representados en las tablas 2, 3 y 4.

Tabla 2. Resultados obtenidos por ganaderías.

Ganadería	Nº animales	IIX	IIA	I
VA	19	5.27 ± 2.00 b	75.28 ± 2.56 abc	19.46 ± 2.7 ab
PSL	16	2.99 ± 1.06 b	79.01 ± 1.56 ab	18.00 ± 2.06 ab
CA	14	8.26 ± 3.18 b	80.36 ± 2.48 ab	11.38 ± 1.60 b
DH	13	5.70 ± 2.05 b	81.01 ± 3.23 ab	13.29 ± 2.04 b
FU	12	5.95 ± 1.33 b	74.04 ± 2.28 abc	20.01 ± 2.07 ab
MO	8	20.46 ± 6.84 a	65.42 ± 6.55 bc	14.12 ± 1.17 b
NU	7	3.00 ± 0.93 b	82.65 ± 1.75 a	14.35 ± 2.05 b
EP	6	8.97 ± 2.90 b	72.46 ± 2.85 abc	18.57 ± 3.43 ab
AS	6	6.57 ± 1.32 b	77.00 ± 1.62 abc	16.43 ± 1.76 b
GU	6	4.82 ± 1.32 b	74.56 ± 2.88 abc	20.62 ± 2.79 ab
LB	6	6.76 ± 2.73 b	63.07 ± 1.92 c	30.17 ± 2.65 a
MI	6	2.29 ± 1.97 b	77.01 ± 4.69 abc	20.7 ± 3.96 ab
AT	6	1.06 ± 0.42 b	81.96 ± 3.42 a	16.99 ± 3.39 b
GJ	6	8.23 ± 3.97 b	68.48 ± 3.54 abc	23.29 ± 3.04 ab
Efecto ganadería	-	0,0047	0,0007	0,0013

¹**abc**: letras distintas representan diferencias significativas dentro de cada columna

Los resultados referentes al porcentaje de fibras oxidativas coinciden con los apuntados por Picard *et al.* (2006), pero se alejan de los señalados por Agüera *et al.* (2001) y Martínez Gomariz *et al.* (1997). Altos porcentajes de dichas fibras indican una buena adaptación para la realización de ejercicios prolongados de baja intensidad. No obstante, la lidia es una actividad intermitente que requiere un importante desarrollo de esfuerzo en momentos variados. Por ello, podría sugerirse la intervención de las fibras IIX durante la lidia, población fibrilar con escasa representación en el músculo del toro bravo. Existe un importante efecto de la ganadería de origen sobre el porcentaje de cada uno de los tipos de fibras, así como, también, diferencias significativas entre las ganaderías muestreadas, aún perteneciendo al mismo encaste.

Tabla 3. Resultados obtenidos por encastes.

Encaste	Nº animales	IIX	IIA	I
ATANASIO	47	4.15 ± 0.97	75.84 ± 1.47	20.01 ± 1.49
MURUBE	20	7.75 ± 2.24	79.35 ± 1.81	12.90 ± 1.32
DOMECQ	33	10.33 ± 2.21	73.4 ± 2.40	16.27 ± 1.32
TORRESTRELLA	18	5.57 ± 0.98	74.21 ± 1.75	20.22 ± 1.62
NUÑEZ	7	3 ± 0.93	82.65 ± 1.75	14.35 ± 2.05
MIURA	6	2.29 ± 1.97	77.01 ± 4.69	20.70 ± 3.96
Efecto encaste	-	0,0295	0,1941	0,0154

Tabla 4. Resultados obtenidos por plazas.

Plaza de Toros	Nº animales	IIX	IIA	I
VALLADOLID	54	5.84 ± 1.39	76.51 ± 1.43	17.66 ± 0.91
PALENCIA	30	4.52 ± 1.21	75.01 ± 1.97	20.47 ± 1.46
SALAMANCA	47	7.98 ± 1.26	75.93 ± 1.56	16.09 ± 1.55
Efecto plaza	-	0,2287	0,8257	0,0959

El encaste de procedencia y la plaza donde se lidiaron las reses no tuvieron efectos significativos sobre el porcentaje de cada uno de los tipos fibrilares del músculo.

En las ganaderías de lidia no existen pautas de manejo estandarizadas referentes a la preparación del toro para la lidia. Así, cada ganadero, durante el último año de estancia del toro en su explotación, realiza aquellas prácticas de manejo, referentes sobretudo a alimentación y entrenamiento físico, que, según su criterio, considera más adecuadas para obtener un toro apto para soportar el esfuerzo requerido durante la lidia.

Los resultados obtenidos parecen indicar que las diferencias existentes en cuanto al manejo de la alimentación y el ejercicio físico de los animales en las ganaderías de lidia, tendrían más influencia sobre el porcentaje final de cada uno de los diferentes tipos de fibras musculares que el encaste de procedencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agüera, E.I., Rubio, M.D., Vivo, D., Escribano, B., Muñoz, A., Villafuerte, J.L., Castejón, F. 1998. Adaptaciones fisiológicas a la lidia en el toro bravo. Parámetros plasmáticos y musculares. *Vet. Mex.*, 29(4):399-403.
- Agüera, E.I., Muñoz, A., Castejón, F.M., Essén-Gustavsson, B. 2001. Skeletal muscle fibre characteristics in young and old bulls and metabolic response alter a bullfight. *J. Vet. Med. A* 48:313-319.
- Armstrong, R.B., Saubert IV, C.W., Seeherman, H.J., Taylor, C.R. 1982. Distribution of fiber types in locomotory muscles of dogs. *Am. J. Anat.* 163: 87-98.
- Cassar-Malek, I., Listrat, A., Picard, B. 1998. Contrôle hormonal des caractéristiques des fibres musculaires après la naissance. *INRA Prod. Anim.*, 11 :34-45.
- Córdova, A., Navas, F. 2000. Fisiología deportiva. Editorial Gymnos. Madrid. 227 pp.
- Essén-Gustavsson, B., Lindholm, A. 1985. Muscle fibre characteristics of active and inactive Standardbred horses. *Equine vet. J.* 17(6): 434-438.
- Hocquette, J.F., Ortigues-Marty, I., Damon, M., Herpin, P., Geay, Y. 2000. Régulation nutritionnelle et hormonale du métabolisme énergétique des muscles squelettiques des animaux producteurs de viande. *INRA Prod. Anim.*, 13:185-200.
- Martínez Gomariz, J.M., Vázquez, J.M., Moreno, F., Gil, F., Ramírez Zarzosa, G., Latorre, R., Albers, O. 1997. Tipos de fibras en el músculo esquelético del toro de lidia (*Bos taurus ibericus*). Estudio histoquímico y morfométrico. *Anales de la facultad de Veterinaria de Murcia*, 13-14: 35-44.
- Micol, D., Picard, B. 1997. Production de viande bovine à l'herbe et qualité. *Fourrages*, 152 : 417-428.
- Ortigues-Marty, I., Jurie, C., Hocquette, J.F., Picard, B., Cassar-Malek, I., Listrat, A., Jailler, R., Bauchart, D., Dozias, D., Micol, D. 2002. The use of principal component analysis (PCA) to characterize beef steers. In: "Multi-Function grasslands. Quality forages, animal products and landscapes", Durand J.L., Emile J.C., Huyghe C, Lemaire C. (Ed.) 2002. EGF, Volume 7, pages 584-585, *Grassland Science in Europe*.
- Picard, B., Barboiron, C., Duris, M.P., Gagnire, H., Jurie, C., Geay, Y. 1999. Electrophoretic separation of bovine muscle myosin heavy chain isoforms. *Meat Sci.*, 53, 1-7.
- Picard, B., Santé-Lhoutellier, V., Aameslant, C., Micol, D., Boissy, A., Hocquette, J.F., Compan, H., Durand, D. 2006. Caractéristiques physiologiques de taureaux de la race Brave à l'issue de la corrida. *Revue Méd. Vét.*, 157, (5): 293-301.

EFFECTO DE LAS HORAS DE AYUNO PREVIAS AL SACRIFICIO SOBRE LA FERMENTACIÓN CECAL Y LA EXCRECIÓN DE SALMONELLA EN MATADERO.

Martín-Peláez, S.¹, Peralta, B.², Creus, E.¹, Pérez, J. F.¹, Mateu, E.², Martín-Orúe, S.M.¹

¹Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal

Departament de Ciència Animal i dels Aliments. sandramaria.martin@uab.es

²Departament de Sanitat i Anatomia Animals

Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

INTRODUCCIÓN

Salmonella es el principal agente zoonótico en los países desarrollados. Los brotes de salmonelosis están asociados al consumo, entre otros, de productos procedentes del cerdo. El principal origen de contaminación de las canales está en el propio contenido del tracto gastrointestinal (TGI) de animales infectados durante el proceso de eviscerado. Por eso, una reducción en la cantidad de *Salmonella* presente en el TGI de los cerdos que llegan al matadero, podría reducir el riesgo de contaminación. En la actualidad es una práctica habitual en nuestro país retirar el alimento a los animales antes de su sacrificio durante periodos que rondan las 24 horas, con el fin de reducir el peso de las vísceras, facilitar el eviscerado y reducir el volumen de residuos en matadero. Sin embargo algunos autores indican, como un mayor periodo de ayuno podría conllevar una mayor proliferación de enterobacterias y en concreto de *Salmonella* en el contenido digestivo (Nattress y Murray, 2000). El objetivo de este estudio fue el de determinar si la práctica de diferentes periodos de ayuno previo al sacrificio tiene algún efecto sobre la fermentación cecal y sobre la excreción de *Salmonella*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo nuestro estudio, se seleccionó una nave comercial infectada subclínicamente con *Salmonella* (prevalencia de excretores= 13%) con un total de 1000 plazas de engorde. Se seleccionaron 90 cerdos, divididos en 2 grupos (45 cada uno) que fueron sometidos a un ayuno de 15 o 30 horas previo a su partida hacia matadero. Dos días antes de ir a matadero se recogieron muestras de heces para el análisis de *Salmonella* mediante técnicas convencionales (resucitación en agua de peptona, enriquecimiento selectivo en RV y siembra selectiva en XLT4 y McConkey seguida de pruebas bioquímicas). Una vez sacrificados los cerdos, se tomaron datos de peso del TGI, muestras de heces a nivel rectal para detección de *Salmonella* y se midió pH en el ciego. Además, se tomaron muestras de contenido cecal para análisis de ADN y enumeración de lactobacilos y enterobacterias mediante qPCR usando SyBR Green (Castillo *et al.*, 2006), ácidos grasos volátiles (AGV) mediante GLC (Jensen *et al.*, 1995) y NH₃ usando un electrodo de amoniaco (Diebold *et al.*, 2004). Los datos se analizaron mediante ANOVA con el procedimiento GLM del SAS (v. 9.1., SAS Inst. Inc., Cary, NC), usando las horas de ayuno como variable clasificatoria.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados del peso del TGI y de diferentes parámetros de la fermentación cecal. Como era de esperar el aumento en las horas de ayuno redujo el peso del TGI ($p < 0,05$), si bien es cierto que las diferencias no fueron importantes y no superaron los 400 g. El mayor peso de las vísceras se ha asociado con una mayor probabilidad de contaminación de la canal, por la mayor dificultad de su manejo durante eviscerado con un mayor porcentaje de laceraciones (Miller *et al.*, 1997). Sin embargo, la magnitud de las diferencias encontradas no parece que supongan una gran diferencia en cuanto al manejo o la generación de residuos.

El pH del ciego aumentó con las horas de ayuno ($p < 0,0001$). Nattress y Murray (2000) encontraron también un aumento en el pH del ciego con un mayor ayuno. El aumento del pH se piensa favorable para el desarrollo de bacterias patógenas en detrimento de las beneficiosas (Ewin y Cole, 1994). La disminución del pH con un menor ayuno fue paralela a

una mayor concentración de AGV probablemente debido a una mayor cantidad de sustrato fermentable. Se sabe que para que los AGV ejerzan efecto antibacteriano primero han de atravesar la membrana celular, para lo que requieren encontrarse en forma no disociada. El porcentaje de disociación depende del pH del medio, de manera que a menores valores de pH, menor porcentaje de disociación. Una vez en el interior de la bacteria, donde el pH es más alto, los ácidos se disocian, reduciendo el pH interno y parando así los procesos enzimáticos que terminan con la muerte de la bacteria (Russell y Diez-González, 1998). De esta forma el efecto coincidente de un menor pH y una mayor concentración de AGV tras 15 h de ayuno potenciarían el efecto inhibitorio sobre los patógenos. En cuanto al perfil de fermentación, hubo un aumento significativo en el porcentaje de ácidos grasos ramificados con un mayor tiempo de ayuno ($p < 0,0001$) que reflejaría de nuevo la falta de sustrato fermentable. De la misma manera, la concentración de NH_3 como indicador de fermentación proteica aumentó cuanto mayor fue el ayuno ($p < 0,0001$).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la microbiología intestinal. Los contajes de enterobacterias incrementaron con el ayuno ($p = 0,08$) mientras que el número de lactobacilos mostró un descenso significativo ($p < 0,0005$). De forma similar, Morishita y Ogata (1970) encontraron disminuciones en el número de bacterias ácido lácticas y aumento de *E. coli* con ayunos de 24 horas. Además del pH y de los AGV como causantes de este descenso, el estrés motivado por las horas de ayuno podría también contribuir a romper el equilibrio intestinal. En nuestro estudio, el porcentaje de cerdos con *Salmonella* en recto fue mayor para el grupo sometido a mayor tiempo de ayuno ($p = 0,09$). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Berends *et al.* (1996) e Isaacson *et al.* (1999).

A la luz de los resultados obtenidos podemos concluir que una reducción de 30 a 15 horas del periodo de retirada de alimento previo a matadero, provoca cambios significativos en la fermentación cecal, con una reducción en los números de enterobacterias y en el porcentaje de animales que excretan *Salmonella*. Esta reducción del ayuno no supone un incremento importante en el peso de las vísceras y por tanto en los inconvenientes de manejo durante el eviscerado, atribuidos a estas prácticas. Aunque sería necesario realizar más estudios para confirmar estos resultados, reducciones del ayuno, como las practicadas en este estudio, deberían considerarse como una herramienta sencilla para reducir el riesgo de contaminación de las canales por *Salmonella* en matadero.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación pública del Proyecto AGL2003-08370-C02-01. Los autores desean igualmente agradecer a Pinos Baucells S.A. su inestimable colaboración poniendo a disposición sus instalaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Berends B.R., Urlings H.A.P., Snijders J.M.A., van Knapen F., 1996. Identification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella* spp. in pigs. *International journal of food microbiology*, 30:37-53. • Castillo, M., Martín-Orúe, S.M., Manzanilla, E.G., Badiola, I., Martín, M., Gasa, J., 2006. Quantification of total bacteria, enterobacteria and lactobacilli populations in pig digesta by real-time PCR. *Veterinary microbiology*. In Press. • Diebold, G., Mosenthin, R., Piepho, H.P., Sauer W.C., 2004. Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and faeces. *Journal of Animal Science*, 82: 2647–2656. • Ewing, W.N. y Cole, D.J.A., 1994. The microbiology of the gastrointestinal tract. Pág. 45-65 en *The living gut. An introduction to microorganisms in nutrition*. Ewing, W.N., Cole, D.J.A., editors. Context, Ireland, UK. • Isaacson R.E., Firkins L., Weigel R.M., Zuckermann F.A., DiPietro J.A., 1999. Effect of transportation and feed withdrawal on shedding of *Salmonella* Typhimurium among experimentally infected pigs. *American journal of veterinary research*, 60:1155-1158. • Jensen, M.T., Cox, R.P., Jensen B.B., 1995. Microbial production of skatole in the hindgut of pigs given different diets and its

relation to skatole deposition in the back fat. *Animal Science*, 61: 293-304. • Miller M.F., Carr M.A., Bawcom D.B., Ramsey C.B., Thomson L.D., 1997. Microbiology of pork carcasses from pigs with differing origins and feed withdrawal times *Journal of food protection*, 60: 242-245. • Morishita, Y. y Ogata, M., 1970. Studies on the alimentary flora of pig. V. Influence of starvation on the microbial flora. *Japanese journal of veterinary science*, 32:19-24. • Nattress, F.M. y Murray, A.C., 2000. Effect of antemortem feeding regimes on bacterial numbers in the stomachs and ceca of pigs. *Journal of food protection*, Vol 63, 9, 1253-1257. • Russell, J.B. y Diez-Gonzalez, F., 1998. The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Advances in Microbial Physiology*, 39: 205-34. • SAS Inst. Inc., 1988. SAS User's Guide: Statistics. Cary, NC.

Tabla 1. Peso del TGI, concentración y perfil de AGVs y concentración de NH₃ en el ciego de cerdos ayunados 15 o 30 horas antes del envío a matadero.

Parámetro	Horas de ayuno		EEM	p-valor
	15	30		
Peso TGI (kg)	6,76	6,39	0,127	<0,05
pH	5,88	6,40	0,083	<0,0001
Total AGV (mM)	89,5	77,8	2,72	<0,005
Acético (%)	58,99	58,62	0,574	0,641
Propiónico (%)	26,30	24,93	0,562	0,086
Butírico (%)	11,08	9,93	0,363	<0,05
Valérico (%)	1,67	2,62	0,112	<0,0001
Ramificados (%)	1,95	3,91	0,194	<0,0001
NH ₃ (g L ⁻¹)	367	769	49,2	<0,0001

Tabla 2. Contajes de lactobacilos y enterobacterias (log copias gen 16S rRNA/g MF) en ciego y prevalencia de Salmonella (% positivos) en heces de cerdos ayunados 15 o 30 horas antes del envío a matadero.

Parámetro	Horas de ayuno		EEM	p-valor
	15	30		
Enterobacterias	8,68	9,09	0,174	0,082
Lactobacilos	9,57	9,00	0,112	<0,0005
Lactobacilos/Enterobacterias	0,87	-0,08	0,174	<0,005
Prevalencia Salmonella (%)	18	33	6,48	0,091

UTILIZACIÓN DEL SUERO LÁCTEO LÍQUIDO EN LA ALIMENTACIÓN DEL CERDO IBÉRICO DURANTE LA RECRÍA

Chávez, L.R.¹, Martín, L.¹ y González, E.²

Producción Animal. Universidad de Extremadura

¹Facultad de Veterinaria, Avda. de la Universidad s/n, 10071 Cáceres.

²Escuela de Ingenierías Agrarias, Ctra. de Cáceres s/n, 06071 Badajoz. malena@unex.es

INTRODUCCIÓN

El uso del suero lácteo procedentes de la industria de la fabricación de quesos ha aumentado de forma importante durante la última década y continuará aumentando en toda Europa. La imposibilidad de gestionar correctamente los residuos puede suponer una limitación en el crecimiento de estos sectores industriales. La alimentación de cerdos con el suero lácteo supone que los métodos alternativos de eliminación, tales como su vertido al medio, combustión o desecación, no son necesarios. La alimentación con este co-producto líquido no sólo tiene beneficios ambientales sino también económicos. Dado que su precio es competitivo, los costes de alimentación pueden reducirse entre un 10 y un 17% (Scholten *et al.*, 1997).

Desde un punto de vista nutricional el suero de quesería se clasifica como co-producto rico en hidratos de carbono, con un contenido en materia seca de 60 g/kg, que consiste principalmente de azúcares, en particular lactosa (54 g/kg MS). También es rico en proteínas de alto valor biológico, englobando sustancias tan indispensables como la inmunoglobulinas, lactoferrinas; vitaminas, sales minerales. En general este co-producto líquido tienen una buena digestibilidad ya que para el suero de quesería el coeficiente de digestibilidad fecal aparente de la materia orgánica, los extractivos libres de nitrógeno y proteína bruta fueron de 93%, 95% y 86% respectivamente (CVB, 1998).

Dada la peculiar composición en ácidos grasos de los tejidos del cerdo Ibérico y el efecto positivo que ejerce sobre las características de los productos cárnicos, resulta interesante conocer los mecanismos relacionados con la alimentación que condicionan la composición en ácidos grasos. Por tanto, es necesaria más información sobre el posible modo de acción del suero sobre la composición en ácidos grasos del tejido adiposo subcutáneo y como se puede diseñar una estrategia de manejo para dirigir esa composición hacia valores los más acordes posibles con una adecuada calidad.

El objetivo de este trabajo se basa en estudiar la utilidad del suero de quesería en la alimentación del cerdo Ibérico: conocer su valoración nutricional y la influencia sobre la composición de ácidos grasos del tejido adiposo. Además, se comprobará si durante el periodo de cebo se anulan las posibles repercusiones sobre la composición de la grasa.

MATERIAL Y METODOS

Para el trabajo se contó con 16 cerdos Ibéricos destetados a las seis semanas. El experimento comienza al iniciar la recría, cuando los animales cuentan con una edad de 18 semanas (\pm 3 días). Se dividen a los animales en dos lotes, el lote C o control con un consumo exclusivo de pienso, y el lote S que consumía suero y era suplementado con un pienso que complementaba nutricionalmente a lo aportado por el suero. Ambas dietas aportan la misma energía, proteína, aminoácidos y minerales en ambos lotes. Para que no existiese rechazo, los niveles máximos de ingestión de suero se determinaron mediante la realización de pruebas previas.

Cuando los cerdos alcanzan el peso de aproximadamente 92 Kg comienza el periodo de cebo y todos los cerdos pasan a un lote común en donde reciben la misma dieta a base de pienso de cebo, suministrado *ad libitum*, con la particularidad de que la fuente de grasa está constituida por aceite de girasol con un alto contenido de ácido oleico.

Para el análisis de la composición de ácidos grasos del tejido adiposo se realizan tres tomas de muestras. Dos de ellas mediante biopsias, la primera al inicio del experimento y la segunda en el momento de terminar la fase de recría y comenzar la fase de cebo (día 86). La última, en el momento del sacrificio en el matadero (día 173). Todas las muestras se recogían de la zona lumbar. La grasa se sometía a una extracción rápida de la grasa por medio del uso del microondas, como lo describe De Pedro *et al.* (1997). La composición de

ácidos grasos era determinada por cromatografía de gases después de una transesterificación ácida en presencia de ácido sulfúrico (5% de ácido sulfúrico en metanol) (Cava *et al.*, 1997). Los resultados se expresan como porcentaje del total de ácidos grasos y se analizan un total de trece ácidos grasos. De ellos sólo se reflejan en este trabajo los mayoritarios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El suero utilizado en este experimento tenía un alto contenido en grasa (0,93 %), proteína (0,89 %) y lactosa (3,23 %) resultando un extracto seco de 5,96 %.

El uso de suero lácteo en la etapa de la recría de los 40 a los 94 kg no mostró efectos negativos en parámetros productivos (Tabla 1) como la ganancia media diaria (GMD) y en consecuencia el tiempo para llegar al peso final e iniciar el periodo de cebo. Tanto los pesos logrados como el tiempo necesario para lograrlo corresponden a los que clásicamente se consideran adecuados para la recría e inicio del cebo en sistemas de cría intensiva (Ambrona, 1992). Los índices de conversión alrededor de 4 (iguales en ambos casos) se consideran aceptables para el genotipo Ibérico correspondiente a la recría y que sitúan autores entre 3,5 y 4,42 (Freitas, 1998).

Se encontraron efectos positivos desde el punto de vista económico, pues se logró sustituir alrededor del 32% del pienso compuesto en base a suero de quesería.

El consumo de suero durante la recría afecta significativamente a la composición del tejido subcutáneo y que se pone de manifiesto en la biopsia realizada en el momento de inicio del cebo (Tabla 2).

La presencia de ácidos grasos de cadena media (láurico C12:0 y mirístico C14:0) en el suero (Tabla 3) se refleja en unos niveles más altos en el tejido subcutáneo. Lo mismo sucede con los ácidos grasos mayoritarios (palmítico C16:0 y esteárico C18:0), cuyos niveles en el suero están por encima de los valores encontrados en el pienso que se les suministra a los cerdos del lote control y se manifiesta de igual manera en la grasa corporal. De esta forma el lote que consume suero de quesería se encuentra con un tejido adiposo con casi un 4 % más en el total de ácidos grasos saturados.

Para el ácido oleico (C18:1) las diferencias apreciadas en la composición del alimento no parecen afectar de forma diferente en su presencia en el tejido subcutáneo. Si se observa que aunque aumentan los niveles de oleico respecto a la etapa inicial de la recría, aumentando de 3 a 4 puntos porcentuales, no se diferencian ambos lotes.

El ácido linoleico (C18:2) se ve marcadamente influido por la dieta. El suero de quesería contiene niveles bajos de este ácido graso, lo que al final se traduce en una diferencia de 3% entre ambos lotes, menor en el lote del suero.

Si estos animales se sacrificaran en este momento darían al mercado unas canales con una grasa de consistencia dura (altos niveles de saturados y bajos de poliinsaturados). Este es el motivo por el cual no se debería incorporar suero de quesería hasta el momento del sacrificio a peso comercial y para evitar estos problemas se debe retirar el suero de la dieta durante el periodo de cebo. En nuestro experimento permanecieron los cerdos consumiendo un pienso engrasado con aceite de girasol alto oleico (incorporado al 5,75%) durante 87 días.

El resultado se aprecia en la tabla 2. Los dos grupos de animales se igualan en composición de ácidos grasos, o sea, el pienso ha conseguido disminuir los niveles de saturados e incrementar los de poliinsaturados. Además ambos lotes alcanzan una composición igualada (excepto en los niveles de C18:2).

Con este trabajo se concluye que el suero lácteo fresco es un subproducto con cualidades nutritivas que pueden ser aprovechadas en la etapa de cría de los cerdos Ibéricos. Además, su utilización durante la recría produce cambios en los perfiles de ácidos grasos del tejido adiposo subcutáneo. Este efecto puede revertirse hacia un perfil considerado de calidad por medio del suministro de un pienso diseñado específicamente para ello, con lo que se logra que al final del cebo no existan diferencias con los que no han consumido el suero lácteo.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Extremadura dentro del proyecto IPR00A0069.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Ambrona, J.** 1992. En: El cerdo Ibérico. La naturaleza de la Dehesa. Zafrá. Ministerio Agricultura, Pesca y Alimentación. pp: 125-135.
- **CVB.** 1998. *Veevoedertabel*.
- **De Pedro, E., et al.** 1997. Microwave oven application in the extraction of fat from the subcutaneous tissue of Iberian pig ham. *Meat Science*, 45: 45-51.
- **Cava, R., et al.** 1997. Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids, triglycerides and phospholipids in muscles of the Iberian pig. *Meat Science*, 45, 263-270.
- **Freitas, A.A.B.** 1998. Influencia do nível e regime alimentar em pre-acabamento sobre crescimento e desenvolvimento do porco alentejano e suas repercussões sobre o acabamento em montanha e com alimento comercial. Tesis Doctoral. Universidad de Evora.
- **Scholten, R.H.J. et al.** 1997. *Proefverslag P1.187*. Praktijkonderzoek Varkenshouderij, Rosmalen.

Tabla 1: Datos productivos.

Lotes	C ¹	S	EEM ¹	Sig ¹
Peso inicio recría (kg)	41,3	39,7	0,13	ns
Peso final recría (kg)	94,1	92,2	0,10	ns
Peso final cebo (kg)	151,6	143,6	0,35	ns
Datos recría				
GMD (g/día)	659	600	1,7	ns
Consumo suero (l)	-	1335	-	-
Consumo suero (kg MS)	-	68,35	-	-
Consumo pienso(kg MS)	211,5	145,5	-	-

¹Ver tabla 2

Tabla 3: Composición en ácidos grasos del suero y los piensos (g/100g grasa).

	Suero	P	S	Cb
C12	3,8	-	-	-
C14	12,6	0,9	0,4	0,3
C16	39,7	21,4	21,5	6,9
C16:1	1,8	1,4	0,7	0,2
C18	14,9	7,0	3,7	3,7
C18:1	24,4	36,8	24,9	67,7
C18:2	2,4	29,7	44,4	19,2
C18:3	0,3	1,9	3,9	1,7
C>20	0,2	0,9	0,4	0,3

P: pienso del lote control durante la recría.
S: pienso del lote con suero durante la recría. Cb: pienso del cebo.

Tabla 2: Composición de ácidos grasos (%) del tejido adiposo subcutáneo.

	día 0		día 86		día 173		EEM	lote	día
	C	S	C	S	C	S			
C<=12	0,12a	0,11a	0,10a	0,16b	0,15b	0,15b	0,004	*	***
C14	1,29a	1,23a	1,29a	1,52b	1,51b	1,61b	0,027	**	***
C16	24,16bc	24,43c	22,90ab	25,09c	22,66a	22,88ab	0,183	***	***
C16:1	2,51c	2,51c	1,88a	2,19abc	1,94ab	2,26bcd	0,047	**	***
C18	12,27b	12,67b	12,95b	14,22c	9,42a	9,17a	0,299	*	***
C18:1	44,84a	45,78a	48,68b	48,04b	52,05c	52,86c	0,469	ns	***
C18:2	11,52e	10,16de	8,75bc	5,74a	9,38cd	8,22b	0,287	***	***
C18:3	0,61b	0,52b	0,36a	0,32a	0,40a	0,39a	0,017	*	***
C20:1	1,22a	1,27a	1,89c	1,55b	1,75bc	1,67bc	0,043	*	***
Σsaturado	38,67b	39,21b	37,99b	41,71c	34,20a	34,31a	0,446	***	***
Σmonoins	49,20a	50,12a	52,89b	52,23b	56,02c	57,09c	0,463	ns	***
Σpolinsat	12,13e	10,67d	9,11bc	6,06a	9,78cd	8,61b	0,300	***	***

Niveles de significación: ns: no significativo; *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001

EEM: Error estándar de la media.

C: lote control, consume pienso P durante la recría. S: lote que consume suero y pienso S durante la recría (ver tabla 3).

ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA ESTIMAR CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO Y DIGESTIBILIDAD FECAL EN AVES

Jiménez-Moreno, E.¹, González-Alvarado, J.M.^{1,2}, de Coca-Sinova, A.^{1,3}, Lázaro, R.¹, Mateos, G.G.¹

¹Universidad Politécnica de Madrid, España. Email: gonzalog.mateos@upm.es

²Universidad Autónoma de Tlaxcala, México

³Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, España

INTRODUCCIÓN

El uso de marcadores indigestibles es frecuentemente empleado en alimentación animal para determinar la digestibilidad de los nutrientes y la energía metabolizable de los piensos (EMA_n). Uno de los métodos utilizados para su determinación es el contenido de cenizas insolubles en ácido (CIA). La técnica más extendida y utilizada en monogástricos es la descrita por Vogtmann *et al.* (1975) (VO), que consiste en hidrolizar una muestra, bien pienso, bien excretas o ileon, con HCl 4N a ebullición durante 30 min, filtrar y secar a 60-100°C para posteriormente, incinerar a 600°C durante un mínimo de 6 horas. La técnica propuesta por Van Keulen y Young (1977) es también a menudo utilizada, especialmente en rumiantes. Esta segunda metodología ofrece ciertas ventajas como es el análisis secuencial de materia seca, cenizas totales y CIA. Además, esta metodología minimiza las pérdidas del marcador durante el análisis. Por tanto, la técnica de Van Keulen y Young (VK) podría ser particularmente ventajosa cuando necesitamos trabajar con muestras escasas tal y como ocurre con los contenidos ileales de pollos de pequeña edad alimentadas con dietas muy digestibles.

MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño experimental fue completamente al azar con 2 tratamientos que consistían en dos técnicas analíticas (VO y VK) para determinar el contenido de cenizas insolubles en ácido y 12 dietas experimentales. Las dietas experimentales fueron diseñadas bajo el arreglo factorial de dos tipos de cereal (maíz y arroz), dos procesados térmicos del cereal (crudo y cocido) y tres fuentes de fibra (ausencia, 3% de cascarilla de avena y 3% de cascarilla de soja). Las dietas se basaban en 60% de cereal, 22% de concentrado proteico de soja, 7% de harina de pescado LT, 3,8% de aceite de soja y 1% de celite como marcador indigestible. Las dietas control además, contenían un 3% de sepiolita. La sepiolita fue sustituida por la cascarilla de avena o de soja en las dietas correspondientes. Cada dieta experimental se replicó tres veces (8-10 pollitos por réplica). A 18 días de edad se colectaron excretas de todas las réplicas, se secaron en estufa a 65 °C durante 72 horas y se molieron a 1-mm. La técnica de Vogtmann *et al.* (1975) se desarrolló según indica AOAC (2000), pero la técnica de Van Keulen y Young (1977) sufrió ligeras modificaciones que consistían en el análisis secuencial de materia seca, cenizas totales y CIA utilizando el mismo recipiente (matraz Erlenmeyer de vidrio borosilicato de 50 mL) y ajustando las temperaturas de incineración a 1) 105° C durante 24 horas para el análisis de materia seca y, 2) 600° C por un mínimo de 12 horas para el análisis de cenizas totales y CIA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de CIA de piensos y heces determinadas por ambas técnicas se muestran en la Tabla 1. Asimismo, la correlación entre el contenido de cenizas totales y CIA así como entre el contenido de energía bruta y CIA determinada por las dos técnicas se muestran en la Figura 1. Los contenidos de CIA en heces fueron diferentes entre tratamientos ($P \leq 0,001$) y entre piensos ($P \leq 0,001$). Sin embargo, no hubo interacción tratamiento x pienso, lo que sugiere que ambas técnicas pueden utilizarse indistintamente para determinar el contenido de cenizas insolubles en ácido.

El tratamiento aplicado para determinar el contenido de CIA no afectó a los resultados de retención aparente de nitrógeno (RN) ni a la digestibilidad del extracto etéreo (CDEE) ($P \geq 0,1$). Sin embargo, para la materia seca (CDMS), materia orgánica (CDMO) y EMA_n, los resultados obtenidos por Van Keulen y Young (1977) fueron ligeramente más bajos que los obtenidos por Vogtmann *et al.* (1975) ($P \leq 0,05$) (Tabla 2). Las diferencias entre técnicas pueden ser debidas a la menor variación observada para las variables DIGMS (C.V. 0,92%), CDMO (C.V. 1,01%) y EMA_n (C.V. 0,7%) con respecto a las variables RN

(C.V. 4,43%) y CDEE (C.V. 1,20%). Además, la correlación entre ambas técnicas para la digestibilidad de todos los nutrientes fue elevada ($r > 0,98$).

CONCLUSIONES

Los valores de CIA en pienso y heces obtenidos a partir de la técnica descrita por Van Keulen y Young (1977) son ligeramente inferiores a los determinados por Vogtmann *et al.* (1975); sin embargo, esta diferencia no afectó al cálculo de la digestibilidad de nutrientes en aves de 18 días. Por tanto, ambas técnicas pueden ser utilizadas indistintamente en la determinación de CIA para el cálculo de la digestibilidad de los nutrientes en piensos para pollos. Dado que la técnica descrita por Van Keulen y Young (1977) permite realizar el análisis secuencial de materia seca, cenizas totales y CIA a partir de una misma muestra y en un mismo recipiente lo que reduce el tiempo de trabajo y facilita el control de la muestra, recomendamos su utilización. Asimismo, la técnica de Van Keulen y Young (1977) permite mejorar la correlación entre los contenidos de cenizas totales, energía bruta y cenizas insolubles en ácido, mejorando la estimación de los valores de digestibilidad de nutrientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis (17^a edn). AOAC, Virginia, MD.
- FEDNA, 2003. C. de Blas, G. G. Mateos y P. G. Rebollar. (Eds.) Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.
- Hill, F.W., y D. L. Anderson. 1958. J. Nutr. 64:587-603.
- SAS Institute, 1990. SAS User's Guide. Versión 6, SAS Institute, Cary, N.C.
- Scott, T. A., y F. Boldaji, 1997. Poultry Sci. 76: 594–598.
- Scott, T. A., F. G. Silversides, H. L. Classen, M. L. Swift, M. R. Bedford, y J. W. Hall, 1998. Poultry Sci. 77:449–455.
- Van Keulen, J., y B. A. Young. 1977. J. Anim. Sci. 44:282-287.
- Vogtmann, H., P. Fritter, y A. L. Prabuck, 1975. Br. Poultry Sci. 16: 531–534.

Tabla 1. Composición analítica de los piensos y heces y comparación del contenido de cenizas insolubles en ácido (CIA) por las técnicas de Vogtmann *et al.* (1975) y Van Keulen and Young (1977)

Pienso	Pienso		Heces			
	CIA, %MS		Energía Bruta Kcal/kg MS	Cenizas Totales % MS	CIA, % MS	
	VO ¹	VK ²			VO ¹	VK ²
1	2,938	2,840	3.390	30,22	10,286	9,916
2	1,275	1,232	3.785	20,73	4,537	4,265
3	1,266	1,238	3.750	20,77	4,221	4,063
4	2,843	2,747	3.388	30,37	10,419	9,947
5	1,233	1,188	3.735	20,54	4,632	4,429
6	1,146	1,125	3.785	20,12	4,252	4,064
7	3,004	2,833	3.305	31,91	12,521	12,079
8	1,012	0,975	3.686	24,04	5,607	5,236
9	1,061	1,023	3.757	22,32	5,029	4,742
10	2,941	2,903	3.390	31,28	11,476	11,111
11	1,191	1,148	3.770	23,94	5,900	5,542
12	1,069	1,065	3.817	21,10	4,650	4,471
Media					6,961	6,655
Correlación ³					0,999	
EEM ⁴					0,106	
C.V., %					2,7	
Efectos					---- Probabilidad----	
Tratamientos					***	
Pienso					***	
Interacción					NS	

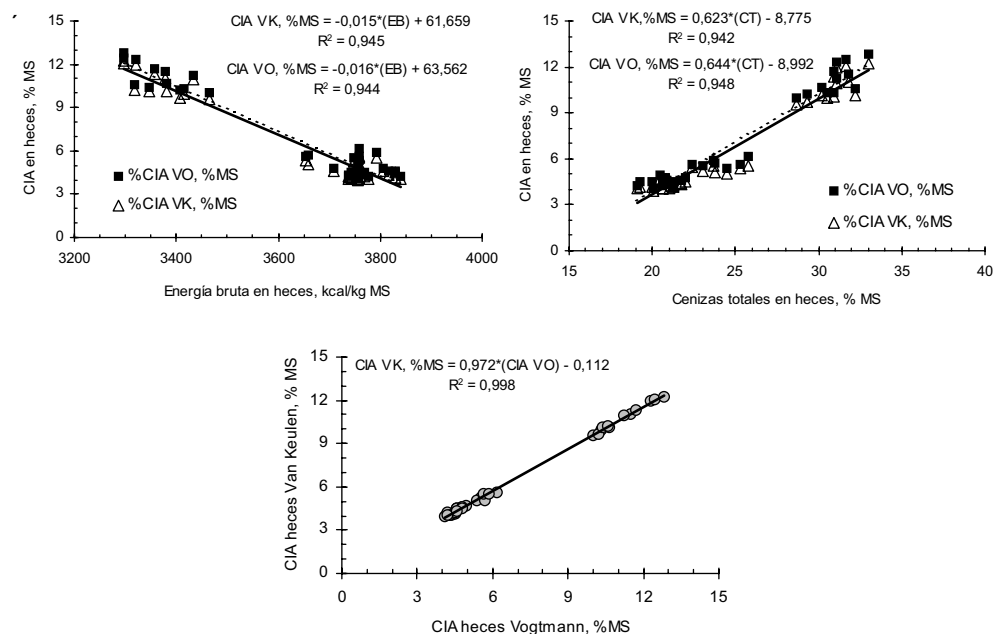
¹ Vogtmann *et al.* (1975). ² Van Keulen y Young (1977). ³ Correlación de Pearson para los valores obtenidos por Vogtmann y por Van Keulen, n = 36. ⁴ Error estándar de la media = 3 (n = número de réplicas/ pienso). *** P ≤ 0,001.

Tabla 2. Digestibilidad fecal aparente de los nutrientes (%) en pollos de engorde de 18 d calculadas a partir del contenido de CIA determinadas por las técnicas de Vogtmann *et al.* (1975) y Van Keulen and Young (1977)

Pienso	Materia seca		Materia orgánica		Nitrógeno		Extracto etéreo		EMA _n Kcal/kg	
	VO ¹	VK ²	VO	VK	VO	VK	VO	VK	VO	VK
1	71,4	71,4	77,7	77,5	69,7	69,6	81,5	81,4	2.872 ^h	2.870 ^g
2	71,9	71,1	75,9	74,9	67,4	66,6	84,3	83,9	2.904 ^g	2.881 ^g
3	70,0	69,5	74,2	73,6	64,6	64,0	84,4	84,1	2.879 ^{gh}	2.863 ^g
4	72,7	72,4	79,0	78,4	70,0	69,6	84,9	84,8	2.976 ^f	2.967 ^f
5	73,4	73,1	77,3	76,8	69,0	68,8	87,4	87,4	3.066 ^d	3.062 ^{dc}
6	73,1	72,3	76,8	76,0	67,1	66,2	85,9	85,5	3.025 ^e	3.001 ^e
7	76,0	76,5	81,9	82,3	66,4	67,3	85,7	86,1	3.065 ^d	3.081 ^d
8	82,0	81,4	85,3	84,8	76,6	76,1	90,3	90,1	3.264 ^a	3.253 ^a
9	78,8	78,4	82,3	81,9	69,8	69,3	87,9	87,7	3.131 ^c	3.121 ^c
10	74,4	73,9	80,3	80,0	66,2	65,7	85,5	85,3	2.988 ^f	2.978 ^{ef}
11	79,8	79,3	83,4	82,9	75,1	74,8	90,6	90,4	3.165 ^b	3.156 ^b
12	77,0	76,2	80,5	79,7	67,9	66,8	87,4	87,0	3.056 ^d	3.033 ^c
Media	75,0	74,6	79,5	79,1	69,1	68,7	86,3	86,1	3.033	3.022
Corr. ³	0,987		0,989		0,985		0,992		0,988	
EEM ⁴	0,40		0,47		1,76		0,60		12,4	
C.V.%	0,92		1,01		4,43		1,20		0,71	
Efectos	----- Probabilidad -----									
Trat.	*		*		NS		NS		*	
Pienso	***		***		***		***		***	
Interac.	NS		NS		NS		NS		NS	

¹ Vogtmann *et al.* (1975). ² Van Keulen and Young (1977). ³ Correlación de Pearson para los valores obtenidos por Vogtman y por Van Keulen, n = 36. ⁴ Error estándar de la media = 3 (número de réplicas/ pienso). * P ≤ 0,05; *** P ≤ 0,001.

Figura 1. Gráficas de correlación energía bruta (EB; Kcal/kg MS) vs. cenizas insolubles en ácido (CIA; %MS), cenizas totales (CT; %MS) vs. cenizas insolubles en ácido (CIA; %MS) para cada técnica y cenizas insolubles en ácido (CIA; %MS) entre ambas técnicas



COMPARACIÓN DE EFECTOS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SELENIO ORGÁNICO (SEL-PLEX®) E INORGÁNICO EN CABRAS LECHERAS

Flores, C.¹, Caja, G.¹, Salama, A.A.K.¹, Saldo, J.², Blandón, J.C.¹, Fandiño, I.¹, Bertin, G.³
¹Ciència Animal, ²Tecnologia dels Aliments, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

³Alltech France, EU Reg. Dept. 92300 Levallois-Perret, Francia.

gerardo.caja@uab.es

INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un micromineral esencial para los animales domésticos. Su deficiencia está asociada a distrofia muscular, problemas reproductivos y de crecimiento (NRC, 2001). De una forma general la carencia de Se es una enfermedad endémica en la mayor parte de las explotaciones ovinas y caprinas españolas. La fuente de Se comúnmente usada en la alimentación de rumiantes es el selenito sódico (Na_2SeO_3), pero su uso y manipulación se ven limitados por el riesgo de toxicidad. Otras fuentes de Se son las de tipo orgánico (metionato de Se y levaduras enriquecidas con Se).

La Unión Europea autorizó en 2006 el uso de Se orgánico (Reglamento CE N° 1750/2006), obtenido a partir de levaduras selenizadas como aditivo en alimentación animal. Se han realizado diversos estudios en vacuno de leche y carne (Pehrson *et al.*, 1999; Juniper *et al.*, 2006) suplementados con Se orgánico, pero no hay datos disponibles sobre su utilización en caprino.

Los objetivos del presente estudio fueron evaluar los efectos comparativos de la suplementación con Se inorgánico (Na_2SeO_3) u orgánico (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060; Sel-Plex®, Alltech, Kentucky, USA) en los rendimientos productivos, niveles de Se excretado en leche y contenido en Se de los distintos pools corporales (sangre, suero, pelo y pezuñas) en cabras lecheras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 30 cabras lecheras de raza Murciano-Granadina durante 210 d de lactación. Después de su nacimiento, los cabritos recibieron calostro y se separaron de sus madres (<8 h postparto), para ser criados con leche artificial. Las cabras se agruparon en 4 grupos homogéneos según semana de parto, peso (PV), condición corporal (CC) y número de lactación, que permanecieron estabulados en la granja experimental del S1GCE de la UAB en Bellaterra, y a los que se asignó al azar uno de los siguientes tratamientos experimentales de suplementación de Se (mg de Se por kg de ración) en el concentrado:

- C (Control sin Se);
- SI-0.30 (0.30 mg de Se; suplementado con 0.739 mg/kg de Na_2SeO_3);
- SO-0.30 (0.30 mg de Se; suplementado con 155 mg/kg de Sel-Plex®); y
- SO-0.45 (0.45 mg de Se; suplementado con 232 mg/kg de Sel-Plex®).

La ración base consistió en 65% de forraje (*Festuca arundinacea*) y 35% de alfalfa granulada, ofrecidos ad libitum a un nivel del 115% del consumo del día anterior. El concentrado (g/kg: maíz, 380; cebada, 290; soja, 90; girasol integral, 50; alfalfa granulada, 110; pulpa de garrofa, 38; Ca_2PO_4 , 25; NaCl, 10; CaCO_3 , 5; CVM, 2) se ofreció a nivel constante (0.8 kg/d) y de forma individual en 2 tomas al día (9:00 y 16:00 h) en la sala de ordeño. El corrector vitamínico mineral no contenía Se (composición por kg: MgO, 144 g; $\text{CuSO}_4(\text{OH})_5 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, 6 g; ZnO, 30 g; KI, 0.3 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 30 g; $\text{CoSO}_4(\text{OH})_5 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, 0.25 g; $\text{FeSO}_4(\text{OH})_5$, 20 g; S, 43.5 g; vit. A, 3.75×10^6 UI; vit. D₃, 1×10^6 UI; vit. E, 10 g α -tocoferol; vit. B₁, 1 g; vit. B₂, 0.5 g; BHT, 75 mg). El estudio se dividió en 3 periodos:

- Periodo 1: Pre-experimental (sem. 1-2, 14 d), en el que todas las cabras recibieron el mismo concentrado C sin Se.
- Periodo 2: Suplementación (sem. 3-18, 112 d), en el que las cabras recibieron un concentrado con Se.
- Periodo 3: Supresión (sem. 19-30, 84 d), en el que las cabras volvieron a recibir el concentrado C sin Se.

El PV y CC (escala 1 a 5, Hervieu *et al.*, 1991) se registraron al parto y posteriormente cada 2 sem. Las cabras se ordeñaron una vez al día (9:00 h), controlando la producción de leche

semanalmente. La leche se analizó quincenalmente en grasa, proteína y caseína, mediante un equipo autoanalizador NIRS (Foss NIRSystems 5000, Hillerød, Dinamarca) de acuerdo con la metodología indicada por Albanell *et al.* (2003). Se tomaron muestras adicionales de leche (50 ml) para el recuento de células somáticas (RCS). Todos los alimentos se muestrearon semanalmente y se analizaron en principios inmediatos de acuerdo con la metodología del AOAC (1995). La proteína (PB = N × 6.25) se analizó por combustión directa según el método de Dumas (Leco N analyzer, Leco, St. Joseph, Michigan, USA) de acuerdo con IDF (2002). La FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991) se analizaron mediante un autoanalizador ANKOM²⁰⁰ (Ankom Technology, Fainport, Nueva York, USA). La composición de los alimentos utilizados figura en la Tabla 1. Los rechazos de alimento se analizaron únicamente en MS (AOAC, 1995).

Tabla 1. Composición nutritiva de los alimentos utilizados (% de MS)

Nutriente, %	Festuca	Alfalfa granulada	Concentrado			
			C	SI-0.30	SO-0.30	SO-0.45
MS	91.9	92.5	92.5	89.8	89.8	89.5
PB	11.3	15.5	14.6	14.5	14.5	14.2
FND	62.2	43.6	7.5	7.7	7.6	7.6
FAD	33.5	29.3	17.3	17.6	17.6	17.8

Se tomaron muestras de sangre (sem. 2, 4, 8, 12, 16, 18, 24 y 30), pelo y pezuñas (sem. 2, 18 y 30) para analizar su contenido en Se (Laboratorios UT2A, Pau, Francia). Finalmente, en la sem. 18, se recogió la producción de leche de cada lote para elaborar queso y analizar su contenido en Se. Los datos se analizaron mediante el procedimiento PROC MIXED de SAS (SAS, 2006, v. 9.1) para medidas repetidas, usando el Periodo 1 como covariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias significativas en la ingestión de alimento (2.0 kg MS/d), ni en la producción (1.6 L/d) y composición química de leche (grasa, 4.6%; proteína, 3.7%; caseína, 2.7%), así como tampoco en el PV (39.7 kg) y CC (2.65) de las cabras durante el experimento. Similares resultados fueron obtenidos por Harrison *et al.* (2005) en vacas suplementadas con Se orgánico o inorgánico.

En el Periodo 1 no se observaron diferencias en la concentración de Se entre tratamientos en las diferentes muestras analizadas. En la Tabla 2 se muestran los valores obtenidos en las concentraciones de Se en sangre, plasma, leche, queso, pelo y pezuñas de cabras lecheras durante los Periodos 2 y 3.

Tabla 2. Contenidos de Se en distintos pools corporales según la dosis y fuente de Se (SI, inorgánico; SO, orgánico) y utilizada en cabras lecheras (Periodo 2 y 3).

Concentración, ng/g	Tratamientos				± ESM	P <
	C	SI-0.30	SO-0.30	SO-0.45		
Periodo 2 (suplementación):						
Sangre	154.5 ^c	328.7 ^b	313.4 ^b	390.8 ^a	13.4	0.001
Plasma	51.1 ^c	122.7 ^{ab}	113.0 ^b	131.7 ^a	4.5	0.001
Leche	8.8 ^d	14.7 ^c	19.8 ^b	40.1 ^a	1.2	0.001
Queso	61.0 ^d	99.5 ^c	159.5 ^b	367.5 ^a	2.7	0.001
Pelo	481.5 ^c	729.6 ^b	699.1 ^b	899.6 ^a	39.4	0.001
Pezuñas	203.9 ^d	312.8 ^c	393.9 ^{ab}	350.3 ^{bc}	25.3	0.001
Periodo 3 (supresión):						
Sangre	170.8 ^c	416.6 ^a	341.1 ^b	437.2 ^a	23.9	0.001
Plasma	58.1 ^c	82.4 ^b	78.6 ^b	107.7 ^a	4.8	0.001
Leche	6.7	8.6	8.0	7.7	0.8	0.325
Pelo	395.1 ^c	531.3 ^b	562.0 ^b	844.6 ^a	41.7	0.001
Pezuñas	187.4 ^f	201.0 ^f	260.5 ^f	358.3 ^e	28.3	0.007

^{a, b, c, d} Medias con diferente letra en la misma fila son diferentes ($P < 0.001$).

^{e, f} Medias con diferente letra en la misma fila son diferentes ($P < 0.05$).

Como se observa en la Tabla 2, a igualdad de dosis de Se (0.30 mg/kg), aunque los valores en sangre, plasma y pelo entre SI y SO fueron similares en el Periodo 2, la suplementación con Se orgánico produjo una mayor excreción de Se ($P < 0.001$) en leche y queso que en el caso del Se inorgánico. Estos resultados indican una mayor eficiencia de la fuente orgánica respecto a la inorgánica en su utilización como suplemento alimenticio. Las diferencias fueron mas marcadas al utilizar la dosis de 0.40 mg/kg ($P < 0.001$), lo que pone claramente de manifiesto la posibilidad de modificar la excreción de Se en leche mediante el empleo del Sel-Plex[®]. Las diferencias desaparecieron durante el periodo de supresión, lo que indicaría unos reducidos efectos residuales.

Similares resultados en las concentraciones de Se en leche, sangre y plasma fueron obtenidos por Pehrson *et al.* (1999) y Juniper *et al.* (2006), utilizando la misma fuente de Se orgánico (Sel-Plex[®]), en vacas lecheras. Estos resultados confirman lo señalado por Mahan (2000) para quien el Se orgánico es escasamente retenido en el tejido muscular y hepático de las hembras lactantes, por tener una tasa de retorno mas baja que en los animales en crecimiento y, consecuentemente, el Se absorbido puede así encontrarse disponible en el tejido mamario para ser incorporado a la leche.

Pese a que las cabras del lote C no recibieron suplementación de Se durante toda la lactación, lo que motivó que presentaran un peor estado general del pelo (alopecia y decoloración en diversas zonas corporales), no se observaron efectos adversos en la producción de leche o en la salud general o de la ubre. Los valores del RCS fueron similares entre lotes experimentales.

Los resultados obtenidos indican que el Se orgánico (Sel-Plex[®]) se transfiere mas eficientemente que el Se inorgánico a la leche y pools corporales, lo que puede ser de especial interés terapeutico, para combatir los estados carenciales (miodistrofia) en lactantes, y dietético para humanos (productos de elevado contenido en Se asimilable). Estos aspectos deberán ser investigados en el futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albanell, E., Caja, G., Such, X., Rovai, M., Salama, A.A.K., Casals, R. 2003. Determination of fat, protein, casein, total solids, and somatic cell count in goat's milk by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 86:746-752
- AOAC, 1995. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis, Vol. I, 16th ed. AOAC, Arlington, VA
- Harrison, G.A., Tricarico, J.M., Elliot, S.A. 2005. Effect of Sel-Plex supplementation on milk production, composition and somatic cell count of lactating dairy cows in commercial dairy herds. *J. Animal Sci.* 83 (Suppl. 1): Abstr.
- Hervieu, J., Morand-Fehr, P., Schmidely, Ph., Fedele, V., Delfa, R. 1991. Mesures anatomiques permettant d'expliquer les variations des notes sternales, lombaires et caudales utilisées pour estimer l'état corporel des chèvres laitières. *Options Médit., Série Sém.* 13:43-56
- International Dairy Federation, 2002. Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Routine method using combustion according to the Dumas principle. IDF 185. Brussels, Belgium
- Juniper, D.T., Phipps, R.H., Jones, A.K., Bertin, G. 2006. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. *J. Dairy Sci.* 77:3371-3376
- Mahan, D.C. 2000. Effects of organic and inorganic selenium sources and levels on sow colostrum and milk selenium content. *J. Animal Sci.* 78:100-105
- NRC, 2001. Nutrient Requirements of dairy cattle (7th Ed.). National Academy Press. Washington DC
- Pehrson, B., Ortman, K., Madjid, N., Trafikowska, U. 1999. The influence of dietary selenium as selenium yeast or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of suckler cows and on the selenium status of their calves. *J. Animal Sci.* 77:3371-3376
- SAS, 2006. SAS User's Guide, v. 9.1. Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE COMPLEJOS VITAMÍNICOS CON O SIN IVERMECTINA SOBRE LA GANANCIA DIARIA DE PESO EN TERNERAS MESTIZAS BRAHMAN EN VENEZUELA

Vitto¹, R., Añez¹, J., Ciria², J.

¹Decanato de Investigación. Dpto. de Ing. de Producción Animal.

Universidad del Tachira. Venezuela.

²Área de Producción Animal. E.U. I Agrarias de Soria (Universidad de Valladolid). Campus de Soria s/n. 42004

jrvitto@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

La incorporación de suplementos vitamínicos en la alimentación animal ayuda a prevenir en las primeras fases de algunas enfermedades y a mejorar sus tasas de crecimiento productivo; además de incidir en la obtención de alimentos seguros, de calidad y de mayor valor nutritivo (Ediciones Técnicas Reunidas, 2003). En este ensayo se pretende evaluar el efecto de algunos complejos vitamínicos sobre la ganancia de peso de hembras mestizas Brahman.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en la Hacienda Agropecuaria Lara Linda C. A, la cual se encuentra en la carretera vía La Ceiba, frente a la población llamada El Km17 del estado Trujillo, Venezuela. El ensayo se efectuó con un total de setenta terneras mestizas Brahman distribuidos al azar en siete lotes de diez animales cada uno y distribuidos de la siguiente forma:

- T-0, grupo testigo, animales con el manejo habitual de la Hacienda sin la aplicación de medicamentos.
- T-1, terneras a las cuales se les aplicó vitamina AD₃E (Trivital[®]).
- T-2, utilización de vitamina AD₃E (Trivital[®]) e ivermectina Ivotan[®] L.A.
- T-3, lote de terneras con modificador orgánico Vallée[®] (es un estimulador de las funciones orgánicas, revitalizante, aumenta la conversión alimenticia y reconstituyente).
- T-4, aplicación de modificador orgánico Vallée[®] e ivermectina Ivotan[®] L.A.
- T-5, terneras bajo administración de ivermectina Ivotan[®] L.A..
- T-6, animales con ivermectina vitaminada (Kumec[®]AD₃E).

Las terneras se pesaron individualmente a los 15 meses (peso inicial) y a los 18 meses de edad (peso final). El análisis de los resultados se realizó mediante un diseño de medidas repetidas con un factor entre sujetos y una covariable (Ravindra y Dayanad, 1999).

El factor es la aplicación de los tratamientos y la variable o respuesta evaluada es la GDP (ganancia diaria de peso) a través del SAS[®], determinándose si existen o no diferencias significativas de los tratamientos respecto al grupo control y el modelo matemático utilizado se describe a continuación:

$$Y = X\beta + Z\Gamma + \varepsilon$$

Donde: **Y**= Matriz asociada a la ganancia diaria de peso. **X**= Representa la matriz del diseño. **β**= Representa el vector de parámetros desconocidos. **Z**= Representa la matriz de las covariables. **Γ**= Representa los coeficientes de regresión asociados a la variable. **ε**= Error residual.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la covariable peso inicial

La interacción peso inicial respuesta no demostró diferencia estadística significativa, por lo tanto el modelo estadístico permite tomar en cuenta o no el peso inicial como covariable. Este análisis concuerda con el realizado por Gutiérrez (1998) donde la covariable peso inicial en ovinos no afectó los resultados del ensayo, pero difieren a las investigaciones de Camero (2004) y León (2003) donde el peso inicial tuvo efecto significativo sobre el aumento de peso.

Efecto sobre la ganancia diaria de peso

El análisis estadístico no señaló diferencias significativas entre los tratamientos a lo largo del ensayo, lo que coincide con Camero (2004) y difiere con lo reportado por León (2003) y Gutiérrez (1998) quienes encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0,05$) en bovinos y ovinos, respectivamente.

En el Cuadro 1, se observa que los grupos experimentales T-1 y T-2 reflejaron ganancia de peso de $0,378 \pm 0,24$ y $0,376 \pm 0,24$ kg/día, respectivamente, siendo superior en 21,54 y 20,90% en relación al testigo el cual obtuvo una ganancia diaria de peso de $0,311 \pm 0,19$ kg. Estos resultados son inferiores a los obtenidos por Feed *et al.* (2003), quienes en vacas Hereford en pastoreo inyectadas con vitamina D₃, observaron ganancia de 0,854 kg/día; 0,054 kg/día más que el grupo testigo, también en la línea de los resultados hallados por Cunha (1975), quien usando vitamina A aumentó la ganancia diaria de peso entre un 10 y 20% y con la experiencia de Chapman, citado por Cunha (1975), el cual obtuvo buena respuesta a la suplementación de vitamina A en novillos.

Cuadro 1. Efecto sobre la ganancia de peso

Trat.	Pi (kg)	Pf (kg)	GDP (g)	Diferencia (kg)	(%) S. P. T-0
T-0	201,77 ± 13,86	229,77 ± 18,29	0,311 ± 0,19	28,00	
T-1	201,60 ± 14,96	235,60 ± 19,16	0,378 ± 0,24	34,02	21,54
T-2	200,60 ± 12,79	234,40 ± 17,93	0,376 ± 0,24	33,80	20,90
T-3	199,40 ± 12,00	227,56 ± 12,48	0,332 ± 0,21	29,88	6,75
T-4	203,40 ± 14,48	234,67 ± 9,69	0,372 ± 0,22	33,48	19,61
T-5	201,00 ± 13,07	237,78 ± 14,54	0,408 ± 0,24	36,78	31,19
T-6	203,33 ± 11,34	237,11 ± 18,87	0,375 ± 0,24	33,78	20,58

Pi= Peso inicial; Pf= Peso final; GDP= Ganancia diaria de peso

%S.P.T-0= % de superioridad en la GDP respecto al grupo testigo.

Los tratamientos T-5, T-6 y T-4 alcanzaron ganancias de peso diarias de $0,408 \pm 0,24$; $0,375 \pm 0,24$ y $0,372 \pm 0,22$ kg superando al tratamiento testigo en 0,097; 0,064 y 0,061 kg, representando una mejoría respecto al testigo de 31,19; 20,58 y 19,61%, respectivamente. El comportamiento de T-5, T-6, T-4 y T-2 descrito anteriormente es similar al observado por Camero (2004) quien obtuvo ganancias de peso en los animales tratados con Dectomax[®] (Ivermectina) más Boldenona[®] de 0,714 kg/día y utilizando Dectomax[®] más Sinovex-M[®] de 0,705 kg/día, siendo el 9,49 y 8,38% de superior en relación al testigo (0,652 kg/día) y por Hoechst, citado por Camero (2004), quien evaluó Zeranol[®] más Ivotan[®] (6,97% superior al testigo) y también valoró el impacto de Revalor[®] más Ivotan[®] (15,86% superior).

León (2003) utilizando ivermectina al 3,15% (Ivomec[®] Gold) e ivermectina al 1% (Kumec[®]AD₃E y Kiver[®]) obtuvo que Ivomec[®] Gold y Kumec[®]AD₃E presentaron ganancia diaria de peso de 0,500 y 0,158 kg, siendo 300 y 26,40% superior respecto al testigo (0,125 kg/día). Por su parte Kiver[®] obtuvo ganancia de peso de 0,122 kg/día representando 2,40% de inferioridad en relación al tratamiento testigo (0,125 kg/día).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMERO, J. 2004. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 48-64 p.
- CUNHA, T. 1975. Nuevos avances en la nutrición y alimentación del ganado de carne vacuno. Orientación agropecuaria. Segunda edición. Revista n° 75. pp 6 – 9.
- EDICIONES TÉCNICAS REUNIDAS. 2003. Las vitaminas mejoran los procesos productivos. (Documento en línea).
<http://www.edicionestecnicasreunidas.com/produccion/ARCP0303.htm> (Consulta: 2005, Abril 10).
- FEED, O., J. FRANCO y P. GRACIA. 2003. Efecto de la administración de vitamina D3 sobre la terneza de la carne de vacas Hereford en pastoreo. Información Técnica Económica Agraria (ITEA). Volumen 99 # 1. pp 41 – 46.
- FONDEVILA, M. 1998. Procesos implicados en la digestión microbiana de los forrajes de baja calidad. Universidad del Zulia (LUZ). Revista de la Facultad de Agronomía. Volumen 15. pp 87 – 106.
- GUTIÉRREZ, R. 1998. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 43 p.
- LEÓN, L. 2003. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 21 p.
- RAVINDRA, K. y DAYANAD, N. 1999. Applied multivariate statistics with SAS[®] software. SAS institute. Second edition. pp 123.

EFFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACION APLICADO EN EL TORO DE LIDIA SOBRE DIVERSOS PARAMETROS INDICADORES DE ALTERACION RUMINAL.

Bartolomé, D.J. ¹, Alonso, M.E. ¹, García, J.J. ², Posado, R. ², Gómez, L. ³, Gaudioso, V. ¹

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071, León. E-mail: dp2dbr@unileon.es

²Centro de Investigación del Toro de Lidia, Paseo de Canalejas, nº 77, 2º A, 37001 Salamanca

³Dpto. Medicina y Sanidad Animal, Universidad de Extremadura. 10071, Cáceres

INTRODUCCION

Según los datos del Ministerio del Interior y de las diversas Asociaciones de Ganaderías de Lidia, en el año 2006 se lidiaron en España 6.229 toros de 4-5 años de edad, cuyo valor de mercado aproximado se situó en 24 millones de euros. Por otro lado, los costes totales de producción estimados de dichos animales se elevaron hasta los 18 millones de euros, de los que la alimentación en su último año de vida equivaldría a casi 4 millones.

Para De Juana (1965), el toro de lidia sería un animal criado completamente a campo, sin otra nutrición que lo que este produce, hasta el momento de ser sometido al periodo de alimentación denominado "cebo prelidia", que suele iniciarse en el verano-otoño del año anterior a su lidia en la plaza. A partir de los cuatro años el toro puede lidiarse en cualquier momento y el peso concreto dependerá de la plaza en que se va a lidiar, así "*el peso mínimo de las reses en corridas de toros será de 460 kilogramos en las plazas de primera, de 435 en las de segunda y de 410 en las de tercera categoría*", según establece la legislación vigente en materia taurina.

El crecimiento de los toros no es homogéneo. Las ganancias medias diarias de estos animales descienden de 400 a 180 g/día en los 2-3 primeros años de vida, para luego recuperar peso hasta los 4-4,5 años consiguiéndose, en la parte final, incrementos medios de 500 g/día (Caballero de la Calle, 2002). Sin embargo, la suplementación intensiva en la época previa a la lidia, en la que un toro suele consumir más de 8 Kg de pienso diarios (Compan *et al.*, 1998), puede contribuir de forma eficiente a dar el trapío deseable al animal, pero no permite compensar los defectos de crecimiento arraigados desde edades juveniles (Rodríguez Medina, 1993).

La necesidad de lograr un perfecto acabado del toro de lidia en un periodo relativamente corto de tiempo hace que los ganaderos deban utilizar cantidades muy elevadas de concentrados en la dieta, en detrimento de los forrajes. Este hecho puede llevar a los animales a manifestar determinadas patologías nutricionales (Jimeno *et al.*, 2003) e incluso sufrir algunos efectos secundarios en forma de caídas durante la lidia (Alonso-Vaz, 2002).

En la actualidad, muchas ganaderías de lidia han incorporado a sus explotaciones remolques mezcladores para intentar paliar los efectos negativos que sobre los animales suele tener la ingesta de cantidades excesivas de concentrados. Sin embargo, apenas existen estudios en ganado de lidia, y vacuno extensivo en general, sobre el efecto que dicho método de alimentación tiene en el padecimiento de la acidosis ruminal. Este es el objetivo que nos planteamos en el presente estudio.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 48 toros de lidia procedentes de ocho ganaderías diferentes, dos de encaste Murube, tres de encaste Atanasio y tres de encaste Domecq. Se controló la forma de suministro diario de la alimentación durante su último año de estancia en la explotación, estableciéndose dos categorías: remolque mezclador y suministro, dos

veces al día, de pienso con paja de cereal *ad libitum*. Después de su lidia en la plaza, en el matadero al que eran trasladadas las reses para su posterior faenado, se midió el pH ruminal mediante pHmetro digital, previa incisión del saco dorsal del rumen. Se analizó el estado macroscópico de la mucosa ruminal, estableciéndose cuatro categorías en función de su coloración: blanca (1), marrón (2), negra (3), muy negra (4) y muy negra con desprendimiento (5). Se tomaron muestras de la porción dorsal del rumen para su estudio histológico, que tras ser fijadas por inmersión en formaldehído tamponado (4%) y teñidas con hematoxilina-eosina y tricómico de Masson, fueron microfotografiadas a 40 aumentos para valorar el grosor de la papila. También se realizó una inspección visual del hígado anotándose cualquier anomalía observada sobre su superficie y estableciendo cuatro categorías: sano (1), friable (2), con adherencias (3) y presencia de adherencias y abscesos (4). Para el estudio estadístico de los resultados se emplearon los programas informáticos STATISTICA® y SPSS® versión 13.0 para Windows. Se consideraron diferencias significativas aquellas cuyo valor de P fue inferior a 0,05. Se aplicó el test de Newman-Keuls para estudiar los efectos de cada una de las variables con efecto significativo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos, en función del sistema utilizado, se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores ruminales obtenidos en función del sistema de cebo.

Sistema Cebo	Nº reses	pH rumen	Grosor papila (µm)
Remolque mezcla	28	5.96 ± 0.43	295.55 ± 76.03
Pienso/paja	20	6.29 ± 0.43	272.49 ± 42.96
Efecto sistema	-	0.0127	0.2277

La media del pH ruminal de los animales finalizados mediante el sistema de alimentación que utiliza remolque mezclador fue inferior a la de los que utilizan tolva de pienso y paja. Además, las diferencias entre dichos resultados fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, el grosor de las papilas del rumen fue mayor en los animales cebados con remolque mezclador, aunque dichas diferencias no llegan a alcanzar significación estadística.

Estos resultados parecen indicar que, a pesar de tener un pH ruminal más alto después de la lidia, los animales alimentados con el sistema pienso/paja presentan mayor grado de lesión en la mucosa ruminal, ya que el grosor de sus papilas se encuentra notablemente disminuido.

Respecto al estado sanitario del hígado y de la mucosa ruminal, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los animales de los dos sistemas de alimentación comparados ($p = 0.8095$ y $p = 0.1180$, respectivamente).

Tabla 2. Resultados ruminales obtenidos por ganaderías.

Ganadería	Nº reses	Sistema cebo	pH rumen	Grosor papila (µm)	HIG	MUC
LB	6	pienso/paja	6.04 ± 0.44	277.69 ± 44.58 a	a	a
AS	6	pienso/paja	6.63 ± 0.35	279.10 ± 45.48 a	bc	b
PSL	7	mezclador	5.96 ± 0.40	257.60 ± 46.65 a	bd	a
VA	7	mezclador	5.97 ± 0.55	385.96 ± 77.99 b	bd	a
DH	6	mezclador	5.93 ± 0.48	270.27 ± 48.52 a	a	a
EP	6	mezclador	6.00 ± 0.42	262.65 ± 57.88 a	acd	a
CA	8	pienso/paja	6.22 ± 0.33	263.64 ± 44.28 a	bcd	a
MO	2	mezclador	5.87 ± 0.49	286.54 ± 9.06 a	acd	a
Efecto ganadería	-	-	0.1073	0.0011	0.03	0.002

¹**abcd**: letras distintas representan diferencias significativas dentro de cada columna

No se aprecian diferencias estadísticamente significativas referidas al valor medio del pH ruminal entre ganaderías, pero sí en lo referente al grosor de las papilas y al estado sanitario del hígado y de la mucosa ruminal. A la ganadería VA, que utiliza el sistema Unifeed, pertenecen los animales que mayor grosor de papilas presentan, seguidos, a gran distancia, por el resto de ganaderías. Por otro lado, la ganadería AS, cuyos animales presentaron una mucosa de color blanca, se diferencia significativamente del resto en lo referente al color de la mucosa.

Los resultados obtenidos parecen indicar que el sistema de cebo con remolque mezclador es mucho más respetuoso con el equilibrio del rumen y el estado sanitario del animal aunque el escaso tamaño de la muestra aconseja realizar nuevos estudios con un mayor número de animales para verificar dicha aseveración.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alonso-Vaz, F. 2002. La alimentación y su influencia en las caídas de los toros. IV Congreso Mundial Taurino de Veterinaria. Salamanca. Pp. 53-61.
- Caballero de la Calle, J.R. 2002. Producción de carne de toro de lidia. Mundo Ganadero, 149 (11):18-21.
- Caballero de la Calle, J.R., López Fuentes, F. 2003. Análisis de la evolución del crecimiento del toro de lidia en la fase de acabado. V Congreso Mundial de Veterinaria Taurina. Valladolid. Pp. 106-109.
- Compan, H., Arriola, J. 1998. Acidosis ruminal en el toro de lidia (III). Toro Bravo, 15:30-33.
- De Juana, E. 1965. Nuevos horizontes en la nutrición económica del toro de lidia. III Semana Internacional del Toro de Lidia. Salamanca.
- Jimeno, V., Majano, M.A., Mazzucheli, F., Mirat, F. 2003. Patologías nutritivas en la terminación del toro de lidia. VI Symposium del Toro de Lidia. Zafra. Pp. 51-61.
- Rodríguez Medina, P.L. 1993. La alimentación del ganado de lidia. I Symposium del Toro de Lidia. Zafra. Pp.79-99

DESARROLLO ANATÓMICO Y MICROBIOLÓGICO DEL RUMEN: EFECTO DE LA EDAD Y TIPO DE DIETA

Belanche, A.¹; De La Fuente, G.¹; Yañez-Ruiz, D.R.²; Calleja, L.¹; Balcells, J.¹.

belanche@unizar.es balcells@unizar.es

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos
Universidad de Zaragoza, M. Servet 177, 50013 Zaragoza,

²Institute of Rural Sciences, University of Wales, SY23 3AL, Aberystwyth, Reino Unido

INTRODUCCIÓN

En el rumiante recién nacido, el retículo-rumen constituye sólo una pequeña parte del tracto digestivo (25-30%) pero de forma temprana estos compartimentos iniciarán un crecimiento alométrico hasta alcanzar, en el animal adulto, un tamaño que se acerca al 80% (Getty, 1975) del tamaño total del tracto digestivo. En esta evolución, el destete representa su punto más crítico y los factores principales que gobiernan este proceso son el acceso del animal pre-rumiante a dietas fibrosas, el asentamiento de ciertas poblaciones microbianas y la interacción entre ambos procesos.

El presente ensayo se pretende estudiar la evolución de ambos factores haciendo especial hincapié en el impacto del destete sobre la relación entre la población y el animal hospedador.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado tres grupos de cinco corderos de Rasos sacrificados a la edad de 30, 45 y 90 días respectivamente. Siguiendo el protocolo de alimentación utilizado convencionalmente, los corderos lactantes (30d) fueron alimentados exclusivamente con leche, el grupo de animales al destete (45d) tuvieron acceso las dos últimas semanas a pienso de cebo y paja, mientras que el último grupo (90 d) fueron finalizados con una ración compuesta por pienso de cebo y paja, ambos *ad-libitum*. Tras el sacrificio, se disecó y aisló el rumen y se procedió al pesaje de la víscera vacía y la digesta que se homogenizó y muestreó. Las muestras fueron congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C. Posteriormente el contenido ruminal fue filtrado a través de una doble capa de gasa. De la fracción líquida se tomaron muestras para la determinación de AGV (Jouany, 1982) y para el recuento óptico de protozoos (Dehority, 2003). El sólido resultante fue resuspendido en una solución de Coleman (William y Coleman, 1992) para liberar las bacterias ligadas débilmente y este segundo filtrado se añadió a la fracción líquida inicial. La fracción resultante fue dividida en dos mitades, de la primera se extrajeron las bacterias por centrifugación diferencial. De la segunda se extrajo la fracción protozoaria, para ello el líquido resultante fue diluido con una solución de Coleman y glucosa al 0,5% y los protozoos se dejaron flocular en un embudo de decantación. Posteriormente el precipitado fue sometido a una filtración diferencial (10-100µm Ø) para purificar el extracto protozoario que se utilizó, al igual que las bacterias extraídas como estándares para las técnicas moleculares cuantitativas (PCR a tiempo real).

La extracción del ADN de las muestras se realizó mediante QIAamp® DNA Stool Mini Kit (Qiagen Ltd, Carwley, West Sussex, UK). La concentración y pureza del ADN extraído fue determinada espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 260 y 280 nm.

La cuantificación microbiana se realizó mediante PCR a tiempo real basada en la utilización del 16S y 18S ADNr como marcadores internos de bacterias y protozoos respectivamente, para ello se utilizaron sendos kits de cebadores testados y específicos para bacterias (Maeda *et al.*, 2003) y protozoos (Sylvester *et al.*, 2004). Las condiciones de la PCR cuantitativa fueron establecidas con el objeto de conseguir una máxima eficiencia de amplificación (>85%). En dicha técnica la utilización de diluciones seriadas de los estándares bacterianos y protozoarios que nos permitió relacionar linealmente el ciclo de amplificación con el logaritmo de la concentración de ADN.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se pudieron detectar anomalías en el comportamiento de los animales en lo que se refiere a la adaptación a la dieta o al tratamiento experimental. En la Tabla 1 figura el consumo pormenorizado (g MS/d) de los ingredientes que compusieron la ración de los corderos. Tanto los valores medios referidos al consumo, peso y crecimiento se sitúan dentro de los límites descritos para esta especie (Balcells *et al.*, 1989) aunque llama la atención que los mayores ritmos de crecimiento (GMD, g/d) en nuestro experimento fue registrado en el peri-destete.

Coincide también con la literatura existente el crecimiento alométrico que se registró en la víscera, incrementando su tamaño relativo del 0.06 al 0.53 %, el caso de la víscera vacía y del 0.21 al 1.72 en el caso del contenido. En ambos casos y como era de esperar tanto el crecimiento de la víscera como su tamaño relativo fueron ralentizándose con la edad aunque en ambos casos las diferencias alcanzaron significación estadística ($P < 0.001$).

En relación a los parámetros de fermentación citar que se produjo un aumento significativo en la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV, mM) desde los 60 registrados en los animales lactantes hasta los 440 registrados en los animales de 90 días. Nuestros resultados confirman que a edades muy tempranas, incluso con dietas lácteas, se pueden detectar procesos incipientes de fermentación microbiana en el rumen. Con el desarrollo de la víscera se modificó la concentración de AGV pero también las proporciones relativas de cada uno de ellos, así el incremento en la proporción de ácido propiónico (de 12 al 20%) lo fue en detrimento de la del ácido acético (del 82 al 73%). El cambio cualitativo en la concentración de AGV debería estar relacionado con el incremento en la ingestión de carbohidratos no estructurales derivada de la ingestión del concentrado. El descenso numérico en el pH reflejó el incremento en la concentración ruminal de AGV aunque las diferencias no llegaron a alcanzar relevancia estadística.

El análisis mediante PCR a tiempo real del ADN extraído de las muestras ruminales se presentan también en la Tabla 1. La presencia de una población microbiana incipiente en los animales lactantes se confirmó mediante la PCR a tiempo real, este ADN fue mayoritariamente de origen bacteriano y su concentración incrementó de forma significativa entre los 30 y 45 días (de 271 a 317 $\mu\text{g DNA/g MF}$ $P < 0.001$) para mantenerse posteriormente constante ($P > 0.01$). En los animales lactantes se detectó además la presencia de ADN protozoario en cantidades significativas (10% del microbiano) para desaparecer posteriormente durante el destete. La refaunación tras el destete, cuando existió (sólo en dos de cinco corderos), alcanzó las tasas más elevadas (25% del ADN microbiano). Defaunaciones y refaunaciones esporádicas, independientes del tratamiento experimental (ración/desarrollo) han sido descritas previamente en la literatura existente (Fonty *et al.*, 1984; Petkov y Enev, 1979). El recuento e identificación de protozoos por microscopía óptica confirmó los resultados expuestos previamente. Dicha identificación confirmó además que la colonización ruminal se inicia con protozoos de la familia Entodiniinae (15-20d de edad), prosigue con la Ophryoscolicidae e Isochichiidae (25-50d) y finalmente coloniza la digesta la familia Diplodiinae (>50d) tal como fue descrito por Fonty *et al.*, (1984).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Balcells, J.; Castrillo, C.; Baucells, M.D.; Guada, J.A. (1989) Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales, 4, 99-109; 1989
- Dehority, B.A. (2003): Rumen Microbiology. Ed: Nottingham University Press. Pp. 43-73.
- Fonty, G., Jouany, J.P., Senaud, J., Gouet, Ph. And Senaud, J., (1984). Can. J. Anim. Sci., 64: 165-166.
- Getty, R. 1975. Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals 5th end, W. B. Saunders Co.
- Jouany, J.P. (1982). Science des Aliments 2: 131-144.
- Maeda H.; Fujimoto C, Haruki Y, Maeda T, Koeguchi S, Petelin M, Arai H, animoto I, Nishimura F.; Takashiba S (2003) FEMS Immunol Med Microbiol 39, 81-86.

Petkov, A; Enev, E.I., (1979). Ann. Rech. Vet., 10: 400-441.

Sylvester, J.T.; S.K.R. Karnati; Z. Yu; M. Morrison; and J.L. Firkins. (2004) In: J. Nutr. 134: 3378-3384.

Williams, A.G.; Coleman, G.S (1992). The Rumen Protozoa. New York: Brock Springer Series in Contemporary Bioscience, Springer-Verlag .

Tabla 1. Efecto de la edad/tipo de dieta sobre el crecimiento y peso al sacrificio de los corderos, el desarrollo del rumen y su microbiota así como su repercusión sobre la fermentación ruminal.

	30d	45d	90d	SE	P
<u>Ingestión:</u> (g MS/d)					
Total	147 ^c	507 ^b	1021 ^a	42.173	***
Leche	147	136		8.337	NS
Pienso de cebo		348 ^b	925 ^a	46.366	***
Paja de cebada		24 ^b	96 ^a	8.165	***
<u>Peso y crecimiento:</u>					
Peso sacrificio (kg)	8.39 ^c	15.23 ^b	23.55 ^a	0.763	***
GMD (g/d)	129 ^b	311 ^a	230 ^a	3.201	**
GMD (%PV/d)	1.54 ^a	2.04 ^a	0.97 ^b	0.178	**
<u>Desarrollo del rumen:</u>					
Rumen lleno (kg)	0.28 ^c	1.08 ^b	2.25 ^a	0.117	***
Rumen vacío (kg)	0.06 ^c	0.28 ^b	0.53 ^a	0.021	***
Digesta (kg)	0.21 ^c	0.80 ^b	1.72 ^a	0.107	***
Digesta (%PV)	2.51 ^c	5.23 ^b	7.29 ^a	0.406	***
<u>Microbiota (µg ADN/g MF)</u>					
Total Microbiano	271	317	362	33.870	NS
Bacteriano	245 ^b	317 ^a	271 ^{ab}	16.686	*
Protozario	26	0.1	90	32.618	NS
<u>Parámetros de Fermentación:</u>					
pH	6.48	6.41	6.12	0.108	NS
AGV totales (mol/l)	0.06 ^c	0.24 ^b	0.44 ^a	0.055	**
Acetato (%)	82.29 ^a	79.89 ^a	73.35 ^b	2.058	*
Propionato (%)	11.69 ^b	16.34 ^{ab}	20.46 ^a	1.723	*
Butirato (%)	3.56	1.83	4.26	1.016	NS
<u>Recuento de Protozoos</u>					
Totales (x 10 ⁵ /ml)	2.5	0.0	15.1	5.402	NS
Entodiinae (%)	93.8 ^a	0.0	88.9 ^b	0.265	*
Diplodiinae (%)	0.0 ^b	0.0	11.1 ^a	2.251	**
Isotrichidae (%)	6.1 ^a	0.0	0.0 ^b	1.369	*

EFFECTO DE LA AUSENCIA DE PROTOZOOS SOBRE LA HIDROGENACIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO EN EL RUMEN DE CORDEROS

Yáñez-Ruiz¹, D.R., Martín-García², A.I. Belanche³, A., Hart.¹ K.J., Newbold¹, C.J.

¹Institute of Rural Sciences, University of Wales, SY23 3AL, Aberystwyth, Reino Unido

²Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 18008, Granada

³Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013, Zaragoza. E-mail: dyy@aber.ac.uk

INTRODUCCION

Los productos alimenticios derivados del rumiante representan la mayor fuente de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación humana. Algunos isómeros de CLA se han asociado con diversas propiedades ventajosas para la salud del consumidor, como la inhibición de ciertos tipos de cáncer, la disminución de la arteriosclerosis y el estímulo de la respuesta inmune. El isómero más abundante de CLA (C18:2, *cis*-9, *trans*-11) llega al tejido animal bien directamente como consecuencia de la hidrogenación de ácido linoleico (AL) llevada a cabo por parte de la población microbiana ruminal o mediante la desaturación de ácido vaccénico (AV, C18:1, *trans*-11), otro isómero sintetizado en el rumen a partir de AL.

Recientemente, se ha observado que los protozoos ruminales poseen mayores cantidades de CLA y AV que las bacterias (Devillard *et al.*, 2006), y que representan una contribución muy significativa (40 %) al flujo duodenal de estos compuestos (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2006). Sin embargo, los estudios que han analizado el efecto de la ausencia de protozoos sobre el metabolismo lipídico en el rumen son contradictorios y han sido realizados antes de haberse suscitado interés científico sobre el metabolismo de CLA y AV. En este sentido, resultados obtenidos recientemente en nuestro laboratorio (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2007) muestran una mayor producción de CLA y menor hidrogenación de ácidos grasos insaturados en corderos libres de protozoos en comparación con animales faunados, cuando ambos grupos fueron alimentados a base de pasto. Sin embargo, se desconoce que ocurre en animales alimentados a base de dietas con una alta proporción de concentrado.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la ausencia de protozoos en el rumen de corderos alimentados con una elevada proporción de concentrado sobre la composición del flujo en ácidos de grasos al duodeno y la cinética de hidrogenación de ácido linoleico *in vitro*.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 12 corderos que fueron separados de las madres a las 24 horas del nacimiento y se mantuvieron durante todo el periodo de lactancia artificial (8 semanas) aislados de cualquier contacto con animales adultos. Tras el destete se separaron aleatoriamente en dos grupos de 6 animales cada uno. En uno de los grupos (grupo faunados, F), a cada animal se suministró por vía oral 5 ml de líquido ruminal recién extraído de ovejas adultas. El mismo tipo de líquido ruminal suministrado al grupo F se centrifugó a 1,000 x g durante 10 minutos. Para garantizar la destrucción de las células protozoarias, la fracción sobrenadante fue congelada durante 12 h, descongelada y homogeneizada y una alícuota de 5 ml fue suministrada a cada animal del segundo grupo (grupo libre de protozoos, LP). Ambos grupos fueron alimentados durante 3 meses a base de concentrado comercial para corderos (Wynnstay plc, Reino Unido) y heno de hierba, ambos *ad libitum*. Posteriormente, durante el mes previo al sacrificio, ambos grupos fueron alimentados en dos tomas iguales cada día con una dieta a base del mismo concentrado y heno de hierba (75:25) para cubrir 1,2 veces sus necesidades de mantenimiento.

Tras el sacrificio, se recogieron muestras de digesta del abomaso, se congelaron a -20°C y se liofilizaron para determinar su contenido en ácidos grasos. Igualmente, 2,5 ml de contenido ruminal de cada animal fueron incubados por duplicado, a 39 °C durante 0, 3 y 6 horas, en tubos de cultivo a los que se adicionaron 0,5 (-) o 2 µl (+) de AL (C18:2, *cis*9, *cis*12). Transcurrido el tiempo de incubación correspondiente, se adicionaron 1,5 ml de una solución de ácido fosfórico 1 M a cada tubo, como fijador, y se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis en ácidos grasos.

El perfil de ácidos grasos fue determinado mediante cromatografía de gases, empleando ácido heneicosanoico (C21:0) como estándar interno y una columna Varian (100 m x 0,25 mm, EEUU) siguiendo la metodología descrita por Kramer y Zhou (2001). Los distintos ácidos grasos se identificaron en los cromatogramas empleando una mezcla de estándares externos (FAME mix Supelco, Reino Unido) y de isómeros de CLA (Matreya, EEUU).

El efecto de la ausencia de protozoos sobre la composición de ácidos grasos se realizó mediante análisis de varianza de una vía empleando el paquete estadístico Genstat 7 (Lawes Agricultural Trust, Reino Unido). El efecto de la ausencia de protozoos y de la concentración de AL sobre la hidrogenación *in vitro* a cada hora de incubación se realizó mediante análisis de varianza de dos vías con muestras duplicadas (Genstat 7).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales pertenecientes al grupo LP permanecieron libres de protozoos durante el desarrollo del experimento. El contenido ruminal de estos animales fue examinado tras el sacrificio y no se detectó ninguna célula protozoaria. Por el contrario, el contenido ruminal de los animales en el grupo F presentó concentraciones de protozoos en el rango habitual en que un animal es faunado de manera natural (10^5 - 10^6 células por mililitro).

En el experimento *in vitro* se empleó contenido ruminal en lugar de sólo líquido ruminal filtrado debido a las diferencias que existen en los patrones de biohidrogenación entre distintas fracciones en el rumen (Dorel *et al.*, 2005).

En la Tabla 1 se presenta la velocidad a la que el AL fue hidrogenado en los intervalos 0-3 horas y 0-6 horas. Durante las tres primeras horas de incubación la aparición de C18:0 fue mayor ($P < 0,001$) en los tubos inoculados con la concentración más alta de AL, lo que coincide con una tendencia ($P = 0,073$) a hidrogenar C18:2 más rápidamente. Se observó una interacción significativa ($P = 0,006$) en la síntesis de C18:0 entre el efecto de la ausencia de protozoos y la concentración de AL añadido, ya que el incremento de la velocidad de hidrogenación es más evidente en el grupo LP que en el grupo F. Esto puede ser explicado por la alta sensibilidad que los protozoos tienen a altas concentraciones de AL (Ivan *et al.*, 2001).

Esta diferencia entre el grupo LP y F desaparece cuando se considera el período de 0 a 6 horas de incubación, lo que sugiere que tras un tiempo de adaptación en el que se elimina parte del AL, la población microbiana presente en animales con protozoos no se ve afectada por un aporte de 2 μ l de AL. Sin embargo, el cálculo de la velocidad de hidrogenación de AL a lo largo de 6 horas mostró valores más elevados ($P = 0,003$) de producción de ácido esteárico en el contenido ruminal de animales faunados, lo que de nuevo corresponde con una desaparición de AL mayor en el grupo F en comparación con LP.

En cuanto al AV, principal fuente de síntesis de CLA-c9,t11 en el tejido animal, se observó una mayor velocidad de síntesis tras el período de 6 horas en el grupo + en comparación con el grupo -.

La digesta recogida en abomaso presentó valores muy similares en la proporción de los distintos ácidos grasos analizados entre ambos grupos experimentales (Tabla 2). Se observó una tendencia hacia mayores ($P = 0,075$) valores de C18:0 y menores de C18:2 ($P = 0,094$) en animales faunados en comparación con aquellos libres de protozoos, lo que indica que la hidrogenación de AL es mayor en el rumen de estos animales, coincidiendo con los valores obtenidos en las incubaciones *in vitro*. Estos resultados son contrarios a los observados en nuestro laboratorio entre animales faunados y libres de protozoos alimentados a base de pasto (Yáñez Ruiz *et al.*, 2007).

Por otro lado, los dos isómeros de CLA analizados en este trabajo se encontraron en proporciones más elevadas en la digesta de animales faunados lo que coincide con valores observados *in vitro* por Devillard *et al.* (2006), que obtuvieron el inóculo ruminal de animales alimentados con una dieta similar a la empleada en este experimento.

Los resultados obtenidos indican que el efecto de la ausencia de protozoos en el rumen sobre la hidrogenación de ácido linoleico depende del tipo de dieta que se suministre

al animal. Con dietas con alto contenido en concentrado se produce una mayor hidrogenación de ácido linoleico en animales libres de protozoos y una mayor producción de ácido vaccénico que en animales faunados. Sin embargo, la producción de CLA es más elevada cuando no existen protozoos en el rumen. Estos resultados deben ser contrastados con el análisis del contenido en ácidos grasos de la grasa de tejidos en animales de ambos grupos experimentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Devillard E, McIntosh FM, Newbold CJ, Wallace J. 2006. *Br J Nutr* 96, 697-704.
 Dorel A, Scollan ND, Lee MRF, Yáñez-Ruiz DR, Newbold. 2006. Proceedings of the BSAS 2005, p 202. ISBN0906526 47 3.
 Yáñez-Ruiz DR, Scollan ND, Merry RJ, Newbold CJ. 2006. *Br J Nutr* 96, 861-869.
 Yáñez-Ruiz DR, Williams S, Newbold CJ. 2007. *Br J Nut* (en prensa).
 Ivan M, Mir PS, Koenig KM, Rode LD, Neil L, Mir Z. 2001. *Small Ruminant Res* 41, 215-222
 Kramer JKG, Zhou JQ. 2001. *Eur Lipid Sc Technol* 103, 594-600.

Tabla 1. Efecto de la ausencia de protozoos (LP: libre de protozoos, F: faunados) y de la concentración de ácido linoleico (+:2 µl, -:0,5 µl) sobre la aparición (mg/ml/h) de ácido esteárico (C18:0) y AV (C18:1, *t*11) y la desaparición (mg/ml/h) de ácido linoleico (C18:2 *c*9-*c*12) sobre 3 y 6 horas de incubación *in vitro*.

	Tratamiento experimental				eed ¹	Probabilidad ²		
	LP-	LP+	F-	F+		P	AL	P * AL
0 a 3 h								
C18:0	0,051	0,401	0,104	0,245	0,0239	0,145	<0,001	0,006
C18:1- <i>t</i> 11	0,010	0,014	0,013	0,017	0,0050	0,618	0,541	0,994
C18:2	0,119	0,349	0,170	0,195	0,0477	0,458	0,073	0,144
0 a 6 h								
C18:0	0,236	0,254	0,379	0,336	0,0024	0,003	0,708	0,373
C18:1- <i>t</i> 11	0,006	0,019	0,005	0,019	0,0050	0,868	0,051	0,949
C18:2	0,070	0,260	0,150	0,246	0,0141	0,114	<0,001	0,005

¹eed: error estándar de la diferencia

²P: efecto de la ausencia de protozoos; AL: efecto de la adición de ácido linoleico.

Tabla 2. Efecto de la ausencia de protozoos (LP: libre de protozoos, F: faunados) sobre la composición en ácidos grasos (mg/100 mg ácidos grasos totales) de la digesta en abomaso.

Ácido graso	Tratamiento experimental		eed ¹	Probabilidad
	LP	F		
C12:0	4,48	3,07	0,715	0,076
C14:0	3,97	3,44	0,399	0,218
C14:1	1,47	1,89	0,195	0,056
C15:0	0,85	0,91	0,208	0,746
C16:0	22,5	25,3	2,71	0,330
C18:0	39,0	48,4	4,63	0,075
C18:1- <i>t</i> 11	2,60	4,21	1,397	0,279
C18:1- <i>c</i> 9	8,06	6,97	1,027	0,314
C18:2- <i>c</i> 9, <i>c</i> 12	8,40	6,02	1,362	0,094
C18:2- <i>c</i> 9, <i>t</i> 11	1,55	0,84	0,415	0,115
C18:2- <i>t</i> 10, <i>c</i> 12	0,45	0,36	0,192	0,628

¹eed: error estándar de la diferencia

EL CONSUMO DE CANTIDADES ELEVADAS DE HOJAS JÓVENES DE ROBLE (*QUERCUS PYRENAICA*) NO RESULTA NECESARIAMENTE TÓXICO PARA EL GANADO VACUNO*

Frutos, P.^{1*}, Doce, R.R.¹, Hervás, G.¹, Toral, P.G.¹, Giráldez, F.J.¹, Mantecón, A.R.¹, Pérez, V.²

¹ Estación Agrícola Experimental. CSIC. Finca Marzanas. 24346-Grulleros, León

² Departamento de Sanidad Animal. Universidad de León. 24071-León

* Correo electrónico: p.frutos@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

En nuestro país, la intoxicación del ganado bovino por taninos hidrolizables (TH), asociada al consumo de hojas jóvenes de roble es una enfermedad frecuente que se presenta repetidamente cada primavera en zonas de media montaña (Mazzuchelli *et al.*, 2000). A este respecto, conviene señalar dos aspectos. Por una parte, que el consumo elevado de hojas inmaduras de roble, y por tanto de TH, por parte del ganado vacuno se relaciona con la falta de disponibilidad de otros recursos alimenticios. Por otra, que aunque no hay ningún trabajo concluyente sobre la patogenia de este tipo de intoxicación, parece ser que los animales más afectados son aquellos con peor estado corporal.

Este trabajo se planteó con el objetivo de estudiar si la ingestión de una cantidad relativamente alta de hojas inmaduras de roble melojo (*Quercus pyrenaica*; hasta 5 kg de hojas frescas por animal y día) por el ganado vacuno resultaba necesariamente tóxica o si el hecho de que los animales partieran de un estado corporal aceptable (aunque no muy bueno) sería suficiente para evitar la intoxicación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En primavera, se recogieron hojas muy jóvenes de roble (*Quercus pyrenaica*; HR) de una zona de bardales de melojo y se congelaron a -30°C hasta el experimento.

Seis erales de raza Parda (aprox. 1,4 años de edad, 534 ± 29,6 kg de PV inicial), canulados en el rumen y estabulados individualmente, se distribuyeron en tres grupos de dos animales cada uno: Control, 2,5-HR y 5-HR. Durante un periodo de adaptación de 14 días, todos ellos recibieron una media de 5 kg/animal y día de heno de raigrás (aprox. 0,95 sus necesidades energéticas de mantenimiento). A continuación, y ya dentro del experimento propiamente dicho, los erales utilizados como Control continuaron recibiendo el mismo heno, pero en una cantidad diaria muy limitada (simulando la situación de escasez a la que se enfrentan los animales en condiciones reales cuando consumen las hojas de roble): 14 g MS heno/kg PV^{0,75}. Los animales del tratamiento 2,5-HR recibieron diariamente 14 g MS de heno más 7 g MS de HR por kg PV^{0,75} (de media 1,7 kg de heno y 2,5 kg de hojas, en fresco) y los del tratamiento 5-HR recibieron 14 g MS de heno más 14 g MS de HR por kg PV^{0,75} (de media 1,8 kg de heno y 5,2 kg de hojas, en fresco). El heno se ofertó en una sola toma, a las 9.00 h. En cambio, las hojas de roble, descongeladas y troceadas ligeramente, se administraron en dos tomas (60 y 40%, respectivamente, aprox. a las 9.00 y 21.00 h), a través de la cánula ruminal, para asegurar que todos los animales recibían la cantidad establecida. Los tratamientos duraron 14 días y a partir del día 15, los erales volvieron a recibir la misma cantidad de heno que en el periodo de adaptación.

Los días 0 (control), 5, 11 y 21 del experimento, se tomaron muestras de fluido ruminal para medir el pH y analizar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y amoniaco.

Los días 0, 6, 12 y 20, mediante la técnica de las bolsas de nailon, se determinó la desaparición de MS de los dos alimentos utilizados (heno y HR) tras 24 horas de incubación.

Todas las mañanas se llevaba a cabo un seguimiento clínico de los animales. Además, los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 28 se recogieron muestras de sangre y orina para analizar su

* R. R. Doce y P. G. Toral disfrutaron de sendas becas predoctorales del MEC y del CSIC (FPI e I3P, respectivamente). Este trabajo forma parte del Proyecto AGL2004-06076

concentración de urea y creatinina plasmáticas, así como la presencia de proteínas en la orina (proteinuria).

Los contenidos de materia seca, nitrógeno y cenizas del heno y de las HR se analizaron según los procedimientos de la AOAC (1999). Las determinaciones de la fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se realizaron mediante la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970). El contenido de taninos totales se estimó mediante la técnica del Folin-Ciocalteu descrita por Makkar (2003), empleando ácido tánico como estándar de referencia. El amoniaco se analizó por colorimetría y los AGV por cromatografía de gases. Las determinaciones de urea y creatinina plasmáticas se realizaron por espectrofotometría y las de proteína en la orina por nefelometría.

Todos los resultados se sometieron a un análisis de medidas repetidas en el tiempo, para lo que se utilizó el procedimiento MIXED del SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 aparece la composición química, incluido el contenido de taninos totales, de los dos alimentos utilizados en el experimento.

Tabla1. Composición química del heno y de las hojas de roble (g/kg MS).

	MS (g/kg)	cenizas	PB	FND	FAD	TT*
Heno	875	88	106	678	360	nd
Hojas de roble	298	44	184	354	146	230

* TT: taninos totales (expresados en equivalentes de ácido tánico). nd = no determinado.

En la Tabla 2 aparecen los valores medios para cada tratamiento, a lo largo del experimento, de la concentración de amoniaco y AGV, así como de la desaparición de MS del heno y de las hojas de roble. La mayor parte de las reducciones observadas en estos parámetros, a lo largo de las dos semanas de tratamiento, serían en primer lugar atribuibles a la subnutrición sufrida por los animales (Doreau et al., 2000), de modo que, con la excepción de la desaparición de MS de las hojas de roble, los valores iniciales se recuperaron una vez que los erales fueron realimentados (ver medidas realizadas el día 21). Aunque la variación individual fue muy elevada y no se alcanzaron diferencias significativas debidas al tratamiento, en la D_{MS} de las HR es llamativa la caída sufrida por el grupo 2,5-HR y sobre todo por el Control (que es el que sufrió una mayor subnutrición), que presentaron valores 12 puntos porcentuales por debajo de los iniciales, incluso siete días después de finalizar los tratamientos. Cabe mencionar también que los valores de pH no mostraron ninguna variación destacable (7,4 de media).

El efecto específico de la ingestión de taninos sobre la fermentación ruminal quedó patente en la acusada disminución de la concentración de amoniaco observada en los grupos 2,5-HR y 5-HR durante la administración de las hojas de roble ($P < 0,01$) y en la reducción de la D_{MS} del heno ($P = 0,0530$). Es interesante señalar que esta última ya aparece recuperada el día 12, cuando aún estaban recibiendo el tratamiento, lo que posiblemente esté relacionado con una adaptación de la población microbiana ruminal al consumo de estos compuestos secundarios (Hervás et al., 2003).

Para interpretar los resultados de urea y creatinina plasmáticas y de proteinuria es importante tener en cuenta que el cuadro clínico y lesional de las intoxicaciones por taninos hidrolizables se produce básicamente como consecuencia de su efecto tóxico sobre el riñón, que es su órgano diana. Ello explicaría la proteinuria de los grupos 2,5-HR y 5-HR. Ahora bien, los bajos valores de proteína alcanzados, a pesar de la oliguria observada, y la rápida y completa recuperación una vez finalizada la administración de las HR, indicarían que no existió un fallo renal importante, sino simplemente una ligera disfunción de la capacidad de filtración y reabsorción. Esto se vería confirmado por el hecho de que tanto los valores de urea plasmática (cuyo pequeño aumento sería consecuencia básicamente del catabolismo proteico debido a la restricción de alimento) como los de creatinina (relativamente constantes a lo largo de toda la prueba) se encontraran en todo momento dentro del rango fisiológico para estos animales (Aiello, 2000).

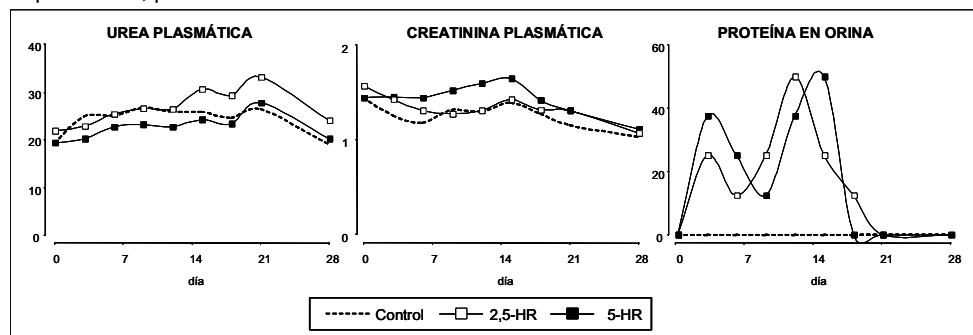
Por lo tanto, podríamos concluir que la ingestión de una cantidad relativamente elevada de hojas jóvenes de roble melojo (hasta 5 kg diarios de hojas frescas), a pesar de su alto contenido de taninos, no resulta tóxica para el ganado bovino cuando los animales no parten de un estado corporal muy pobre. Sería necesario, evidentemente, comprobar si cuando los animales parten de un mal estado corporal, se produce la intoxicación con las mismas cantidades de hojas.

Tabla 2. Valores medios, para cada tratamiento experimental (control, 2,5-HR y 5-HR), de la concentración de amoníaco (mg/L) y AGV (mmol/L) los días 0, 5, 11 y 21 del experimento y de la desaparición de MS (D_{MS}) del heno y las hojas de roble (%) los días 0, 6, 12 y 20.

Día	Tratamiento	Amoniaco	AGV	D_{MS} Heno	D_{MS} HR
0	Control	106,2	57,1	72,2	54,0
	2,5-HR	66,9	43,6	71,7	53,4
	5-HR	78,7	43,8	71,7	52,3
5(6)	Control	54,8 ^a	30,3	70,3 ^a	50,5
	2,5-HR	10,6 ^b	30,3	65,3 ^b	56,8
	5-HR	13,8 ^b	31,3	63,2 ^b	53,8
11(12)	Control	55,0 ^a	33,6	69,7	48,1
	2,5-HR	12,8 ^b	30,7	67,2	46,8
	5-HR	8,3 ^b	39,0	67,5	54,3
21(20)	Control	104,0	55,4	70,5	41,6
	2,5-HR	79,1	54,4	67,7	41,9
	5-HR	72,9	44,7	69,8	48,6
	eed	13,66	5,57	1,58	4,58
Nivel de significación					
Tratamiento		0,0041	0,4759	0,0530	0,5275
Día		0,0002	0,0025	0,0064	0,0827
Tratamiento × Día		0,9781	0,5644	0,4313	0,8357

Para cada día experimental, valores con distintos superíndices difieren significativamente ($P < 0,05$).

Figura 1. Valores medios de urea (mg/dL; eed=2,96) y creatinina (mg/dL; eed=0,18) plasmáticas y de proteína (mg/dL) en la orina, los días 0, 3, 6, 9, 12, 18 y 21 del experimento, para cada tratamiento.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiello E. (Ed.) 2000. *El manual Merck de veterinaria* (5ª Edn.). Océano Grupo Editorial, Barcelona.
- AOAC. 1999. *Official methods of analysis of the AOAC*. AOAC International (USA).
- Doreau M, Grimaud P, Michalet-Doreau B. 2000. *Productions Animales* 13, 247-255.
- Goering MK, Van Soest PJ. 1970. *Forage Fiber Analysis*. USDA, Washington (USA).
- Hervás G, Frutos P, Giráldez FJ, Mantecón AR, Álvarez del Pino MC. 2003. *Anim. Feed Sci. Technol.* 109, 65-78.
- Makkar HPS. 2003. *Quantification of tannins in tree and shrub foliage*. Dordrecht (Holanda).
- Mazzuchelli F, González M, Banco J. 2000. *Producción Animal* XV, 87-115.
- SAS. 1999. *SAS OnlineDoc*, Version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC (USA).

COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN PRE-PUBERAL EN EL DESARROLLO MAMARIO Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE A LA PRIMERA LACTACIÓN EN OVINO DE RAZA MANCHEGA Y LACAUNE

Zidi, A., Caja, G., Ayadi, M., Castillo, V., Flores C., Such, X.
 Grup de Recerca en Remugants, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra.
 E-mail: gerardo.caja@uab.es

INTRODUCCIÓN

La recría de hembras de reposición es un aspecto clave en la productividad de las granjas a medio y largo plazo, siendo un periodo caracterizado por un elevado coste económico. La velocidad de crecimiento de las hembras de reposición tiene un efecto directo en la edad a la pubertad y en el coste de alimentación. Una velocidad de crecimiento elevada durante el periodo de recría hasta la pubertad afecta de forma negativa y permanente a la producción de novillas lecheras (Zanton y Heinrichs, 2005). En el caso del ganado ovino, los efectos de la alimentación pre-puberal fueron estudiados por Jonson y Hart (1985) y McFadden *et al.* (1990).

En ovino lechero, las corderas se mantienen en cebadero con elevadas velocidades de crecimiento hasta los 30 kg PV. Se ha sugerido que este sistema de recría puede tener efectos negativos sobre el desarrollo de la glándula mamaria (Caja *et al.*, 2000). En este sentido, 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 observaron efectos positivos de un crecimiento moderado antes la pubertad en la producción de leche a la primera lactación en corderas MN, pero no en LC. La continuación del estudio por Zidi *et al.* (2005) mostró que este efecto positivo en MN parece que se mantiene en la segunda lactación ($P < 0.10$).

El objetivo de este trabajo es profundizar en las causas de la diferencia de los efectos del nivel de alimentación pre-puberal sobre el desarrollo mamario, y su relación con la producción de leche, en corderas de raza MN y LC en la primera lactación.

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 sem) para conseguir ganancias de peso altas (A, 280 g/d), a base de pienso y paja ad libitum, y moderadas (M, 180 g/d) utilizando pienso racionado y alfalfa ad libitum. A las 22 semanas, el grupo A se unió al rebaño de ovejas adultas en pastoreo y las del grupo M se sometieron a crecimiento compensador para recuperar PV a la cubrición. La pubertad fue detectada mediante moruecos vasectomizados y las corderas fueron cubiertas a partir del 2º celo detectado. Después del primer parto de las corderas que quedaron preñadas y destete (sem 5) de sus corderos, las ovejas se ordeñaron (2 veces/d) en una sala 2 x 12 (Westfalia Landtechnik, Granollers, Barcelona) a 42 kPa, 120 p/min y 50% y su producción de leche se controló semanalmente hasta la sem 17.

Para evaluar el desarrollo mamario se utilizó la tomografía axial computerizada de la región de la ubre (TAC, Excel 2400 elite, Haifa, Israel), que se realizó en una muestra de 10 corderas representativas de cada grupo a las 16 y 36 sem, en el Hospital Veterinario de la UAB. Para cada TAC, las corderas se mantuvieron 24 h en ayunas y se inyectaron i.m. con una mezcla tranquilizante (xylacine, 0.1 mg/kg BW; Rompun, Bayer, Leverkusen, Alemania; y ketamine, 2 mg/kg BW; Imalgène, Merial, Lyon, Francia). La distancia de separación y la anchura de corte de las imágenes fueron de 2.5 y 5 mm, a las 16 y 36 sem de edad, respectivamente. El tratamiento de imagen se hizo mediante ImageJ software v.1.34 (National Institute of Health; disponible en <http://rsb.info.nih.gov/nih-image>), distinguiendo

entre parénquima (tejido glandular) y grasa ('fat pad'). Los datos fueron analizados mediante el PROC MIXED de SAS v.9.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del crecimiento hasta la pubertad se han resumido en la **Tabla 1**, en la que se observa que, entre 7-22 sem de edad, la ganancia de peso diaria (GMD) fue menor en MN que en LC, de acuerdo con su potencial de crecimiento, aunque la diferencia sólo fue significativa en el grupo A ($P < 0.05$). La edad a la pubertad fue menor en las corderas LC del grupo A y mayor en las MN del grupo M, de acuerdo con el PV alcanzado.

Tabla 1: Crecimiento y edad a la pubertad de las corderas según el nivel de alimentación y la raza.

Item	MN		LC	
	Alto	Moderado	Alto	Moderado
n	18	17	12	10
PV, kg				
sem 5	12.8 ± 0.4 ^{ab}	11.8 ± 0.5 ^a	13.3 ± 0.5 ^b	11.9 ± 0.6 ^{ab}
sem 16 (TAC 1)	31.2 ± 0.8 ^b	23.4 ± 0.9 ^c	36.9 ± 1.1 ^a	29.0 ± 1.2 ^b
sem 22	44.2 ± 0.1 ^b	30.5 ± 0.1 ^a	49.7 ± 1.1 ^d	38.6 ± 1.3 ^c
sem 27	48.4 ± 1.1 ^b	38.3 ± 1.2 ^d	54.6 ± 1.1 ^a	44.9 ± 1.3 ^c
sem 36 (TAC 2)	54.4 ± 1.2 ^b	47.1 ± 1.3 ^c	64.2 ± 1.5 ^a	56.8 ± 1.7 ^b
Edad a la pubertad, d	245 ± 5 ^b	280 ± 6.0 ^a	217 ± 9.0 ^c	238 ± 12 ^b
GMD, g/d				
sem 5-22	254 ± 9 ^b	164 ± 7 ^c	293 ± 11 ^a	189 ± 13 ^c
sem 22-27	183 ± 11 ^d	223 ± 9 ^b	201 ± 14 ^c	279 ± 18 ^a
sem 27- pubertad	150 ± 8 ^b	120 ± 6 ^c	190 ± 16 ^a	140 ± 19 ^b

^{a, b, c}: letras distintas en la misma fila indican diferencias a $P < 0.05$

El volumen de parénquima mamario (**Tabla 2**), estimado a partir del TAC, se vio afectado por la raza ($P < 0.001$), pero no por la GMD ($P > 0.1$), para las dos edades consideradas (16 y 36 sem). En la raza LC, el grupo A presentó un mayor volumen de parénquima (+25%; $P < 0.05$) a 16 sem respecto al grupo M. Lo que parece contradecir la teoría general de que un nivel alto de nutrición antes de la pubertad limita el desarrollo mamario posterior. Este aumento de parénquima no se observó en las corderas de raza MN.

Tabla 2: Evaluación del desarrollo mamario mediante tomografía axial computerizada (TAC) de corderas según la raza y el nivel de alimentación.

Item	Manchega		Lacaune	
	Alto	Moderado	Alto	Moderado
n	10	10	10	10
TAC 1, 16 sem.				
Parénquima, cm ³	33 ± 3 ^{bc}	26 ± 3 ^c	48 ± 3 ^a	36 ± 3 ^b
Grasa, cm ³	71 ± 6 ^a	33 ± 6 ^b	68 ± 7 ^a	46 ± 6 ^b
Ubre, cm ³	103 ± 7 ^a	59 ± 7 ^c	116 ± 7 ^a	82 ± 7 ^b
Parénquima, %	32.1 ± 4.2 ^b	46.1 ± 4.2 ^a	42.2 ± 4.4 ^{ab}	46.5 ± 4.2 ^a
TAC 2, 36 sem.				
Parénquima, cm ³	64 ± 11 ^c	81 ± 11 ^{bc}	130 ± 11 ^a	102 ± 11 ^{ab}
Grasa, cm ³	223 ± 29	211 ± 29	276 ± 30	202 ± 29
Ubre, cm ³	287 ± 33 ^b	292 ± 33 ^b	406 ± 36 ^a	304 ± 34 ^b
Parénquima, %	22.2 ± 2.4 ^b	27.4 ± 2.4 ^{ab}	33.9 ± 2.6 ^a	32.9 ± 2.4 ^a

^{a, b, c}: letras distintas en la misma fila indican diferencias a $P < 0.05$

No se observaron diferencias significativas cuando el parénquima se expresó como porcentaje del volumen total de la ubre a 16 sem de edad en LC. Esto parece indicar que la

diferencia en la GMD (105 g/d a la sem 22) entre el grupo A y M en LC no fue bastante para afectar negativamente el desarrollo mamario en esta raza. En este sentido, Sejrnsen *et al.* (2000) propusieron en vacuno un nivel crítico de GMD máxima para el desarrollo mamario según el nivel genético del animal. En la raza MN a las 16 sem, el volumen del parénquima no varió con el tratamiento (**Tabla 2**). Sin embargo, se observó un mayor porcentaje de parénquima (+14 puntos; $P < 0.05$) en el grupo M como consecuencia de su menor volumen total de la ubre respecto al grupo A (-44%; $P < 0.05$), de acuerdo con los resultados observados por Jonson *et al.* (1985) y McFadden *et al.* (1990) en corderas. Recientemente, Meyer *et al.* (2006) mostraron en novillas lecheras que el uso de la edad al sacrificio como covariable elimina el efecto de la nutrición en la cantidad de DNA del parénquima mamario. El efecto de la nutrición puede no ser debido a la GMD por si misma y relacionarse con el tipo de crecimiento. Además, el nivel de engrasamiento podría ser el mejor indicador del efecto negativo de una alta GMD (Silva *et al.*, 2002). A las 36 sem de edad, no se observaron diferencias ($P > 0.05$) en el volumen de parénquima, grasa y porcentaje de parénquima según el nivel de alimentación y la raza. Estos resultados pueden haberse visto afectados por el crecimiento compensador aplicado, tal como indicó Johnson *et al.* (1985). Respecto a la producción de leche (**Tabla 3**) solo se observaron diferencias entre A y M en el caso de MN ($P < 0.05$), y no en LC. No se observaron diferencias en la composición de leche, pero se observó más grasa y PB en corderas MN en el lote M. Se observó también una correlación negativa entre el volumen de la grasa y la producción de leche en la raza MN ($r = -0.57$ y $r = -0.50$; $P < 0.05$ en las 16 y 36 sem de edad, respectivamente) pero no en la raza LC, lo que indica que un aumento de la grasa limita el desarrollo mamario y puede afectar la producción de leche, pero no la composición. Este efecto negativo varía entre razas, lo que puede estar relacionado con su nivel genético de producción de leche.

Tabla 3: Producción y composición de la leche en la primera lactación según la raza y el nivel de alimentación

Item	Manchega		Lacaune	
	Alto	Moderado	Alto	Moderado
n	11	8	6	4
Prod. leche, l	44.7 ± 15.0 ^c	83.2 ± 13.0 ^b	196.5 ± 15.0 ^a	159.6 ± 18.4 ^a
Composición leche				
- Grasa, %	7.76 ± 0.18 ^a	8.33 ± 0.21 ^a	6.85 ± 0.25 ^b	6.61 ± 0.30 ^b
- PB, %	5.77 ± 0.08 ^a	5.86 ± 0.09 ^a	5.44 ± 0.10 ^b	5.16 ± 0.13 ^b
- Casein, %	4.36 ± 0.06 ^a	4.38 ± 0.07 ^a	4.14 ± 0.09 ^{ab}	3.98 ± 0.11 ^b

^{a, b, c}: letras distintas en la misma fila indican diferencias a $P < 0.05$

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ayadi M., Caja G., Such X., Ghirardi J.J. 2002. XXVII Jornadas Científicas de la SEOC, 19-21 Septiembre, Valencia. Pp 127-135.
- Caja G., Duch X., Rovai M., 2000. Proc 6th Great Lakes Dairy Sheep Symp., Nov 2-4, Guelph, Ontario. Pp 17-40.
- Johnson I., Hearst I.C. 1985. Anim. Prod. 41:323-332.
- McFadden T.B., Daniel T.M. Akers R.M. 1990. J. Anim. Sci. 68:3180-3189.
- Meyer M.J., Capuco A.V., Ross D.A., Lintault L.M., Van Amburgh M.E. 2006. J. Dairy Sci. 89: 4289-5297.
- Sejrnsen K., Purup S., Vestergaard M., Foldager J. 2000. Domest. Anim. Endocrinol. 19:93-104.
- Silva L.F.P., VandeHaar M.J., Whitlock B.K., Radcliff R.P., Tucker H.A. 2002. J. Dairy Sci. 85:2600-2602.
- Zanton G.I., Heinrichs A.J. 2005. J. Dairy Sci. 88:3860-3867
- Zidi A., Caja G., Such X., Ghirardi J.J., Albanell E. 2005. ITEA Prod. Animal, 26 (vol. extra): 249-251.

*Sistemas ganaderos-economía
y gestión*

LA FORMACIÓN DE LOS RESULTADOS ECONÓMICOS EN DIFERENTES TIPOS DE SISTEMAS OVINOS QUE UTILIZAN UN ESPACIO NATURAL PROTEGIDO

Manrique E., Olaizola A. M., Zamudio, A.
Dpto Agricultura y Economía Agraria. Universidad de Zaragoza,
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. olaizola@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Una necesidad básica para el cumplimiento de la multifuncionalidad atribuida a las explotaciones agrarias de carácter familiar es la obtención continuada de niveles de renta que, en unas condiciones sociales dadas, aseguren la sostenibilidad económica de las explotaciones. El Parque Natural de la Sierra y Cañones de Guara (PSCG), localizado en un área de montañas mediterráneas, ocupa una superficie de 80.739 ha de las cuales el 50 % la constituye el "Área de Protección" y el resto el "Área Periférica de Protección". En el año 2000 era utilizado en diferente medida por 62 explotaciones, sobre todo ovinos (54) con cerca de 33.000 ovejas.

No existen razones apriorísticas para que la utilización del Parque incida de forma determinante en los resultados económicos de las explotaciones; sin embargo no se conocen las economías y posibles singularidades económicas de las explotaciones extensivas que utilizan estos espacios.

MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de la información obtenida mediante una encuesta directa a 54 explotaciones ovinas (año 2000) se elaboraron indicadores referidos a la dimensión de la explotación (superficie y rebaño), la localización de la superficie en el área de protección y periférica, la importancia relativa de los cultivos, la localización y el tipo de los recursos pastorales, realizándose una tipificación mediante Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM) y Análisis Cluster (AC) (Bernués *et al.*, 2004). Una segunda encuesta (manejo pastoral de los rebaños, estacionalidad de los aprovechamientos, distribución de la SAU, disponibilidad y características de los factores productivos, etc.) realizada a 11 explotaciones representativas de los cuatro grupos obtenidos (explotaciones representadas) mediante el AC (Ammar, 2006), ha permitido analizar algunos factores que contribuyen a explicar el comportamiento pastoral de las explotaciones (Manrique *et al.*, 2005) y ahora mediante la elaboración de indicadores de estructura, ingresos y costes ganaderos, aproximarse al análisis de la formación de resultados económicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el grupo I la dimensión media del rebaño es de carácter intermedio, pero el número de ovejas por trabajador familiar es bajo, próximo a la del grupo de menor rebaño (Tabla 1). Presentan una elevada especialización ovina con bajos niveles porcentuales de ingresos agrícolas. Las subvenciones representan uno de los porcentajes más altos de los ingresos totales. Son las explotaciones que perciben las mayores subvenciones agroambientales y por oveja. El número de corderos vendidos por oveja es el más bajo, aunque los ingresos unitarios, inferiores a los de otros grupos, no difieren demasiado. Los costes totales por oveja son los menores debido a unos costes variables bajos. Como consecuencia los márgenes brutos por oveja son los más elevados; mientras que la productividad del trabajo, más dependiente del rebaño por unidad de trabajo, es de las menores.

El grupo II presenta la dimensión de rebaño y la carga por UTA mayores. Son explotaciones de total especialización ganadera pues sólo el 1,6 % de los ingresos totales son agrícolas. Perciben la menor cuantía de subvenciones por oveja y también son modestas las agroambientales. La incidencia de las subvenciones en el total de ingresos no difiere de los otros grupos. Son las explotaciones con el mayor número de corderos vendidos por oveja y por ello obtienen los ingresos unitarios más elevados. Es uno de los

grupos con costes totales y variables por oveja más altos. Sin embargo, los costes fijos unitarios son los menores; lo que apunta a la existencia de economías de dimensión. El MB por oveja es bajo, mientras la productividad del trabajo familiar es la más elevada; consecuencia de la mayor dimensión estructural.

Las explotaciones del grupo III son de dimensión de rebaño intermedia aunque la carga por unidad de trabajo es elevada. Los ingresos agrícolas suponen un tercio de los totales, lo que señala la importancia de la orientación agrícola. Son las explotaciones que menos subvenciones agroambientales perciben y en las que las subvenciones tienen menor incidencia en los ingresos totales. Los corderos vendidos y los ingresos por oveja están entre los más bajos. Los costes totales unitarios son los más elevados debido a que, si bien, los costes fijos no difieren de los de los otros grupos, destaca la importancia de los variables. Como consecuencia de la relativa mediocridad de los ingresos y de los elevados costes, tanto el MB/oveja como la productividad del trabajo familiar son los más reducidos.

El grupo IV presenta la menor dimensión de rebaño y carga ganadera por unidad de trabajo. Son explotaciones de policultivo-ganadería en las que los ingresos agrícolas suponen el 56 % del total. Son elevadas las subvenciones agroambientales percibidas y las subvenciones por oveja. No obstante, la incidencia en los ingresos totales es la más baja (15,1 %). Los indicadores técnicos de ingresos y ventas de corderos son favorables. En los costes sólo destacan los elevados costes estructurales por oveja. Este grupo presenta los mejores resultados económicos relativos, superando incluso a las explotaciones de gran dimensión del rebaño.

De los indicadores analizados se desprende que las estructuras ganaderas de estas explotaciones son inadecuadas en lo que se refiere al número de cabezas por trabajador incluso en aquéllas en las que la dimensión del rebaño es elevada. El alcance de esta valoración debe expresarse con cautela en explotaciones con actividad agrícola significativa (Grupos III y IV sobre todo).

Con algunas excepciones, los ingresos procedentes del ovino son mayoritarios y como sucede con el total de ingresos, están altamente relacionados con la dimensión del rebaño. Las subvenciones de explotación suponen entre el 21 % y el 29 % de los ingresos totales. En general, representan una mayor proporción en las explotaciones de mayor especialización ganadera y menor en las de mayor incidencia de las actividades agrícolas. La Prima Compensatoria Ovina (PCO) puede representar entre el 98 % y el 56 % de todas las subvenciones. Las agroambientales raramente alcanzan el 20 % de la PCO; si bien en algunas, con orientación agrícola, pueden situarse entre el 30 % y el 44 %.

Los ingresos por oveja vienen determinados, sobre todo, por el número de corderos vendidos y su precio; por lo que la cuantía presenta una relativa heterogeneidad. La incidencia de las subvenciones en los ingresos unitarios varían entre el 21,3 % y el 43,6 %.

Los costes totales ganaderos por oveja varían entre 22,3 y 40,4 €/oveja; con una excepción que los presenta muy inferiores. Los costes variables unitarios presentan una gran dispersión entre explotaciones. En principio, los más reducidos serían expresión de un sistema más extensivo; por lo que las explotaciones de los grupos I y IV serían las de este carácter.

El MB ganadero es muy dispar y, sin ser proporcional, está relacionado con la dimensión del rebaño.

El indicador más significativo desde la óptica de la sostenibilidad económica de las explotaciones es el MB explotación por UTA familiar. Evidentemente la dimensión de la actividad también incide en este indicador, pero los costes amortiguan la proporcionalidad en las grandes explotaciones. Así varía entre 13.398€ y 42.426€.

Tabla 1. Características económicas medias de las explotaciones representativas de los diferentes tipos de sistemas ovinos.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Nº Explotaciones representadas	16	13	18	7
Nº Explotaciones representativas	3	3	3	2
Estructura				
Nº de ovejas	560	1216	501	400
UTA total	2,23	2,5	1,76	1,65
UTA familiar	1,6	2,16	1,33	1,5
Ovejas/UTA	251	486	285	242
% Derechos PCO	96	98	98	100
Ingresos				
% Ingresos agrícolas	16,3	1,6	30,2	56,3
Total Subvenciones (€)	15.548	30.513	13.606	12.630
Subv. Agroambientales (€)	3.244	2.271	1.865	3.110
% Subv.Ingresos.total	26,3	25,2	24,8	15,1
Subvenciones/oveja (€)	27,8	25,1	27,2	31,6
Ingresos ovino/oveja (€)	66,2	69,2	62,4	71,0
Corderos vendidos/oveja	0,89	1,18	0,74	1,12
Costes ganaderos				
Costes variables/oveja (€)	15,4	23,9	27,2	21,0
Costes fijos/oveja (€)	6,15	5,8	6,9	8,2
Costes ganaderos totales/oveja (€)	21,6	29,8	34,2	29,2
Resultados				
MB ovino/oveja (€)	72,4	64,6	55,3	73,4
MB explotación/oveja (€)	64,5	57,3	50,7	135,0
MB explotación/UTA fam. (€)	22.583	32.338	19.098	35.988

MB: Margen Bruto

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ammar, A. 2006. Multifuncionalidad de las explotaciones ganaderas. Relaciones de sostenibilidad entre los sistemas ovinos y el Parque de las Sierras y Cañones de Guara. Thesis Master of Science. IAMZ-CIHEAM, 246 pp.
- Bernués, A., Olaizola, A.M., Casasús, I., Ammar, A., Flores, N., Manrique, E. 2004. Livestock farming systems and conservation of Spanish Mediterranean mountain areas: the case of the "Sierra de Guara". 1. Characterisation of farming systems. Cahiers Options Méditerranéennes 62, 195-198.
- Manrique, E., Olaizola, A., Ammar, A. 2005. Estrategias de utilización de los recursos pastorales por explotaciones ovinas en un espacio natural protegido: El Parque Natural de la Sierra de Guara (Huesca). En "Producciones agroganaderas: gestión eficiente y conservación del medio natural" Osoro K Argamentaría, A y Larracelata, A. (Eds), 291-298

INFLUENCIA DE LA PRIMA FIJA EN LOS RESULTADOS TÉCNICOS Y ECONÓMICOS DE EXPLOTACIONES OVINAS DE CARNE EN ARAGÓN

Pardos Castillo, L.¹; Maza Rubio, M^a. T.²; Fantova Puyalto, E.³

¹ Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Ctra. Cuarte s/n, 22071 Huesca. lpardos@unizar.es

² Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. mazama@unizar.es

³ Carnes Oviaragón S.C.L. Edificio Pastores. Ctra. Cogullada, nº65 Mercazaragoza, Calle G., 50014 Zaragoza. Enrique@oviaragon.com

INTRODUCCIÓN

La principal novedad del Reglamento (CE) 2529/2001 del Consejo, por el que se establece la Organización Común de Mercado de las carnes de ovino y caprino, fue la introducción de una prima fija a partir de 2002. Para López (2000), el sistema de pagos compensatorios variables existente hasta entonces que estaba basado en una pérdida de ingresos medios, no incitaba a los ganaderos a mejorar la eficacia técnica de sus explotaciones y a obtener ganancias más elevadas del mercado. Al no depender ya de los precios de mercado y los kilos producidos, la prima fija ha podido incentivar a los ganaderos a mejorar sus resultados productivos y, como expone Gil et al. (2003), a adoptar estrategias de comercialización que les permitan percibir precios superiores. La prima fija facilitaría las decisiones de comercialización e inversión a largo plazo y, por tanto, la continuidad de los productores en la actividad ganadera de ovino. En este sentido, cualquier intento por obtener precios más elevados (calidad, estacionalidad, etc.) puede incidir positivamente sobre las expectativas de futuro del sector. Marcén (2002) en esta misma línea argumental propone que podría servir para modernizar las explotaciones, sobre todo mejorando la calidad de vida de los ganaderos y haciéndolas más atractivas para los jóvenes.

El presente trabajo pretende analizar la posible incidencia que la introducción de la prima fija haya tenido en las explotaciones, a través de las variaciones experimentadas en una serie de ratios técnico-económicos de las mismas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos que se analizan han sido obtenidos a partir del Programa de Gestión Técnico Económica de ovino de carne desarrollado por la Escuela Politécnica Superior de Huesca de la Universidad de Zaragoza y la Cooperativa ganadera Carnes Oviaragón SCL. Se trata de una muestra constante de 51 explotaciones que han sido analizadas durante el periodo 1996-2005. Es necesario matizar que el muestreo no es aleatorio, sino que se trata de explotaciones que han participado de forma voluntaria en el Programa de Gestión a lo largo de los últimos diez años. Los datos de cada explotación corresponden a la media de 2 subperiodos que comparamos estadísticamente entre sí: 1996-2001 con prima variable y 2002-2005 con prima fija. Para que los resultados económicos sean comparables están expresados en € constantes del año 2005 en función del Índice de Precios al Consumo.

Las características fundamentales de este Programa de Gestión son la valoración de los autoconsumos procedentes de la propia finca agrícola (incluso los aprovechados a diente) y de la mano de obra familiar. Para separar la actividad ovina de otro tipo de producciones agrícolas o ganaderas que puedan tener las explotaciones, los autoconsumos se valoran a precio de mercado o, cuando éste no existe, a coste de producción, y para la mano de obra familiar dedicada al ganado ovino se utiliza la media de los salarios percibidos por la mano de obra asalariada descontando las cargas sociales. No se consideran las amortizaciones de instalaciones, utillaje y maquinaria ni los costes de oportunidad del capital (fijo y circulante).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los resultados expuestos en la Tabla 1, cabe destacar que en el periodo 2002-2005 las explotaciones estudiadas presentaban con respecto al periodo anterior:

- Un mayor tamaño del rebaño (+85,6 ovejas) y de animales manejados por unidad de trabajo (+71,4), en este último caso con diferencias significativas, intentando optimizar la mano de obra disponible.
 - Un mayor número de corderos vendidos por oveja presente y año (+0,106), a pesar de que se ha producido un aumento en la mortalidad de corderos (+1,61%). La mejora en el número de partos por hembra es debida a la sustitución de sistemas de cubrición tradicionales por otros más intensivos y al empleo en mayor proporción de "flushing", efecto macho y tratamientos hormonales (esponjas o implantes de melatonina). La de la prolificidad se debe a la participación de algunas explotaciones en el programa de mejora genética por prolificidad de la UPRA Carnes Oviaragón. En cuanto al incremento de la mortalidad, pensamos que es debido en mayor medida a cuestiones de manejo (incremento del tamaño del rebaño e intensificación productiva) que a problemas sanitarios.
 - Un menor precio medio por cordero vendido (-5,24 € constantes del año 2005), a pesar de vender un mayor porcentaje de animales bajo la IGP "Ternasco de Aragón" (+22,7%). Es decir, el incremento de la calidad no se ha visto reflejado en los precios y, como puede observarse en los porcentajes de ventas por semestres, no se ha producido todavía una desestacionalización de la producción intentando buscar los mayores precios del segundo semestre del año, ya que como se observa la diferencia no es significativa.
 - A pesar del incremento productivo, los menores precios hacen que los ingresos procedentes de la venta de corderos sean prácticamente iguales en ambos periodos. Sin embargo, los ingresos por subvenciones son significativamente superiores (+6,38 €) por la introducción de la prima fija y las medidas agroambientales a partir del año 2001 que perciben algunas de las explotaciones. De esta forma, los ingresos totales son superiores (+3,13 €), aunque sin presentar diferencias estadísticas.
 - Un coste de alimentación total por oveja similar (+0,93 €), pero con mayor coste en alimentación comprada (+3,66 €) ligado a la intensificación productiva y menor en autoconsumos a pesebre (-3,02 €), en este último caso con diferencias significativas. La alimentación comprada por oveja ha pasado de representar el 34,2% de la total en el periodo 1996-2001 al 41,2% en el 2002-2005.
 - Un menor coste de mano de obra por oveja (-5,59 €), al incrementarse el número de ovejas por UTH, y un importante incremento de los costes generales en este periodo (+3,52 €). A pesar de las escasas diferencias en los costes totales por oveja (-2,5 €), el coste por cordero vendido debido al incremento de la productividad numérica es significativamente inferior (-9,11 €).
 - Todo lo anterior se traduce en la obtención de unos mejores resultados económicos por oveja (+5,63 €) y por unidad de trabajo (+4.345 €), con diferencias significativas en el último caso debido al incremento en el número de ovejas por UTH.
- Así pues, en el periodo estudiado, se ha producido una mejora en la productividad del trabajo ligada fundamentalmente a un incremento productivo, de las subvenciones, y a la optimización de la mano de obra disponible, y no a un incremento en los precios ligados al aumento de la calidad o la desestacionalización de la producción. En este sentido, el incremento de 1 kg en el peso admisible aprobado en la IGP "Ternasco de Aragón" en el año 2006 es posible que pueda mejorar este último aspecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gil, J.M.; Perdiguero, A.; Kaabia, M.B., 2003. Factores determinantes de las expectativas de futuro de los ganaderos aragoneses de ovino. Estudios Agrosociales y Pesqueros (198), 151-181.
- López, A., 2000. Recomendaciones para una nueva OCM del Sector de ovino y caprino de la Unión Europea. Mundo Ganadero (128), 12-14.
- Marcén, F., 2002. Presente y futuro del nuevo mercado del sector ovino. Mundo Ganadero (143), 36-37.

Tabla 1. Evolución de los datos estructurales, índices técnicos y resultados económicos en € constantes del año 2005. Muestra constante de 51 explotaciones.

	1996-2001	DT (1)	2002-2005	DT	SIG
Datos estructurales					
Número de ovejas	636,0	440,6	721,6	572,3	
Número de UTH	1,48	0,67	1,44	0,68	
% UTH familiar	90,6	19,9	91,0	21,5	
Número ovejas/UTH	429,7	136,6	501,1	153,0	*
Índices técnicos					
Partos por oveja	1,135	0,125	1,167	0,142	
Prolifricidad	1,321	0,122	1,351	0,159	
% Mortalidad de corderos	10,08	3,50	11,69	4,15	*
Corderos vendidos por oveja	1,142	0,228	1,248	0,320	*
Análisis de ventas					
Precio medio cordero	68,87	2,16	63,63	1,88	***
% Ventas IGP Ternasco de Aragón	30,0	22,9	52,7	33,6	***
% Ventas primer semestre	49,9	8,5	48,2	10,3	
% Ventas segundo semestre	50,1	8,4	51,8	9,6	
Ingresos por oveja					
Corderos (2)	79,23	16,69	79,05	20,76	
Subvenciones (3)	31,27	5,79	37,65	7,67	***
Otros (4)	6,42	5,88	3,35	4,71	**
Ingresos Totales	116,92	18,90	120,05	21,25	
Costes por oveja					
Alimentación comprada ovejas	16,11	10,75	19,77	14,08	
Alimentación comprada corderos	11,39	3,75	12,29	4,43	
Autoconsumos a pesebre	11,69	6,82	8,67	7,96	*
Autoconsumos a diente	3,16	2,92	2,89	3,05	
Arrendamiento de pastos	4,73	4,19	4,39	4,37	
Alimentación Total	47,08	12,39	48,01	13,21	
Mano de obra familiar	29,56	12,85	23,97	9,69	*
Mano de obra asalariada	3,32	6,93	2,89	6,30	
Seguridad Social Agraria	3,99	1,45	3,78	1,55	
Sanidad + Reproducción	3,42	1,19	3,47	1,29	
Compra reproductores	2,89	5,68	2,34	4,10	
Intereses préstamos	0,87	1,02	0,65	1,25	
Costes Generales (5)	4,45	1,63	7,97	2,95	***
Costes Totales	95,58	16,64	93,08	16,79	
Coste por cordero vendido	83,69	19,09	74,58	20,44	*
Resultados económicos					
Margen Bruto por oveja	21,34	15,93	26,97	17,80	
Margen Bruto por UTH	9.170	7.611	13.515	10.403	*

(1) Desviación Típica

(2) Incluye el autoconsumo, el pago en especie y la variación de inventario de corderos

(3) Prima básica, complemento al mundo rural, indemnización compensatoria, asociación de defensa sanitaria y agroambientales desde el 2001

(4) Desecho, animales para vida, lana, diferencia de inventario de ganado reproductor, etc.

(5) Esquileo, cuotas asociaciones y cooperativas, costes de comercialización, seguros, transportes, agua, electricidad, gasóleo, reparaciones y mantenimiento, alquiler instalaciones, etc.

* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$

ESTIMACIÓN DE LA CARGA GANADERA ECONÓMICAMENTE ÓPTIMA EN FINCAS DE GANADO VACUNO DE CARNE DEL ECOSISTEMA DE LA DEHESA

Daza A., Martín R.

Departamento de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.
Universidad Politécnica. Ciudad Universitaria. 28040. Madrid. argimiro.daza@upm.es

INTRODUCCIÓN

La carga ganadera más frecuentemente adoptada en las fincas de ganado vacuno de vacas de cría del ecosistema de la Dehesa fluctúa entre 0,25 y 0,33 vacas tipo por ha (Daza, 1999), valores que no implican que sean los económicamente óptimos. Un aumento de la carga ganadera parece justificable, en modelos de explotación ganadera sostenibles, siempre que aumente la ganancia por ha sin que el incremento de la presión de pastoreo afecte negativamente a la producción de pasto a medio o largo plazo como consecuencia de los efectos indeseables del sobrepastoreo.

De otra parte, los sistemas más usuales de programación de la reproducción en las explotaciones de vacas de cría de la Dehesa cálida (Extremadura y Andalucía occidental) son los que observan una paridera continua o parideras concentradas en seis meses (octubre-marzo) o cuatro meses (noviembre-febrero) (López de Torre et al., 1986; Daza, 1999), lo que se traduce en resultados técnicos distintos y en claras diferencias en lo que concierne a los costes de suplementación alimenticia y a los precios de venta de los terneros al destete.

El objetivo del presente experimento es establecer un modelo teórico que nos permita estimar la carga ganadera económicamente óptima en las explotaciones de vacas de cría de la Dehesa bajo los dos esquemas convencionales de manejo reproductivo aludidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha realizado utilizando un conjunto de datos referentes al sistema de explotación del ganado vacuno de carne del ecosistema de la Dehesa relativos a variables climatológicas, edafológicas zootécnicas y económicas concretizados para la comarca de Cáceres. La estimación de la disponibilidad de pasto, en la zona objeto de estudio, se ha realizado según la metodología desarrollada por un grupo de investigadores coordinado por Jiménez Mozo (1986) y la capacidad de ingestión y necesidades energéticas y nitrogenadas de la vaca tipo (vaca adulta más sus correspondientes fracciones de semental y de novilla de reposición) acorde con los datos aportados por el INRA (1988) para el ganado vacuno extensivo. Para la paridera concentrada y continua se consideró una fertilidad del 82 y 88% respectivamente y una relación toro/vacas de 1/25 y 1/60, y en la paridera continua se adoptó el calendario de partos obtenido en la misma zona por Daza y González (1997). Los valores del resto de las variables productivas (peso de los reproductores, tasa de reposición, producción de leche de las vacas, etc) se consideraron iguales para ambos tipos de paridera. En la suplementación de los animales se ha observado el déficit cuantitativo (periodo octubre - febrero) y el cualitativo (julio - septiembre). Se han simulado fincas con una producción de pasto anual entre 1200 y 2000 kg de materia seca por ha y cargas ganaderas de 0,1 a 1,2 vacas tipo por ha estimándose la suplementación alimenticia anual mediante la ayuda de la hoja de cálculo Excel. Para el cálculo del margen bruto se han considerado los ingresos derivados de las compensaciones comunitarias y de los terneros y de los animales de desecho vendidos y los costes inherentes a la amortización del ganado, alimentación suplementaria, higiosanitarios y generales o varios (seguros, impuestos, energía, conservación y reparaciones, etc). No se han considerado ni la amortización de las instalaciones, mano de obra e intereses de la inversión, ganado y capital circulante. Por comodidad de cálculo los costes variables inherentes al ternero se han incluido en los costes de la vaca tipo. La estimación del margen bruto se ha realizado siguiendo el método propuesto por Alonso y Serrano (2004). Con los datos estimados de margen bruto y los

valores considerados de presión de pastoreo se realizó un análisis de regresión simple mediante la ayuda del programa Statgraphics-5 Plus.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 puede observarse como la suplementación alimenticia anual es superior con la paridera concentrada que con la continua y que las diferencias entre ambas se van reduciendo a medida que se incrementa la carga ganadera. Esta diferencia de suplementación es lo que genera, en definitiva, las diferencias de margen bruto entre ambos tipos de paridera.

Tabla 1. Suplementación alimenticia anual en UFL/ha según carga ganadera (CG) y planificación de la reproducción para una disponibilidad de pasto de 1200 kg de MS/ha.

C G (vacas tipo/ha)	Paridera concentrada	Paridera continua	Δ Continua vs. Concentrada %
0,1	44,24	56,59	27,91
0,2	88,49	113,19	27,91
0,3	278,98	339,10	21,54
0,4	516,19	570,53	10,52
0,5	771,44	841,10	9,03
0,6	1020,97	1068,67	4,67
0,7	1304,22	1360,35	4,30
0,8	1545,39	1600,34	3,56
0,9	1846,26	1910,22	3,46
1,0	2158,51	2228,68	3,25
1,1	2470,77	2547,95	3,12
1,2	2783,03	2867,23	3,02

La relación entre margen bruto por ha y la carga ganadera se ajustó a una función cuadrática de estructura $y = a + bx - cx^2$ obteniéndose, para las diversas producciones de pasto consideradas, coeficientes de determinación muy elevados. De los resultados explicitados en la Tabla 1 se infiere que a medida que aumentan las disponibilidades de pasto el margen bruto se incrementa para ambos tipos de paridera concentrada y continua. Cuando se concentra la paridera en los meses de otoño-invierno el margen bruto por ha es, para cualquier producción de pasto, superior que el que se logra con la paridera continua, resultado que concuerda con el obtenido por Rodríguez et al (1995) en un experimento realizado con vacas de raza Avileña-Negra Ibérica.

Se concluye que un aumento de la carga ganadera hasta el límite permitido por la UE para recibir la compensación por extensificación (1,4 UGM/ha lo que equivale aproximadamente a 1,2 vacas tipo por ha) se traduce en un incremento del margen bruto por ha, aunque la cuantía de tal incremento que se va reduciendo conforme aumenta la carga. Habría que estudiar si en las fincas de Dehesa con cargas ganaderas altas, pero con el ganado adecuadamente suplementado, se observan fenómenos lesivos concernientes al mantenimiento del ecosistema.

Tabla 1. Ecuaciones de regresión entre la carga ganadera en vacas tipo por ha (x) y el margen bruto por ha en euros (y) según disponibilidades anuales de pasto (DAP en kg de MS por ha) y sistema reproductivo (paridera concentrada en otoño invierno *versus* paridera continua).

DAP	Paridera	Ecuación de regresión	R ²	P <
1200	Concentrada	$Y = 39,2 + 358,6 * x - 170,6 * x^2$	0,98	0,0001
	Continua	$Y = 38,5 + 319,9 * x - 154,6 * x^2$	0,98	0,0001
1300	Concentrada	$Y = 37,9 + 383,9 * x - 179,9 * x^2$	0,98	0,0001
	Continua	$Y = 37,7 + 336,3 * x - 156,3 * x^2$	0,98	0,0001
1400	Concentrada	$Y = 37,9 + 399,3 * x - 181,3 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 37,7 + 354,4 * x - 160,7 * x^2$	0,97	0,0001
1500	Concentrada	$Y = 37,4 + 415,3 * x - 183,1 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 38,7 + 362,6 * x - 153,3 * x^2$	0,97	0,0001
1600	Concentrada	$Y = 35,6 + 432,6 * x - 186,7 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 37,3 + 380,8 * x - 163,8 * x^2$	0,97	0,0001
1700	Concentrada	$Y = 32,8 + 456,4 * x - 195,6 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 34,6 + 402,9 * x - 173,2 * x^2$	0,97	0,0001
1800	Concentrada	$Y = 30,4 + 476,0 * x - 202,9 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 29,1 + 441,0 * x - 197,3 * x^2$	0,97	0,0001
1900	Concentrada	$Y = 24,9 + 512,4 * x - 224,5 * x^2$	0,97	0,0001
	Continua	$Y = 25,7 + 464,9 * x - 209,0 * x^2$	0,98	0,0001
2000	Concentrada	$Y = 19,6 + 551,6 * x - 249,2 * x^2$	0,98	0,0001
	Continua	$Y = 22,2 + 489,6 * x - 220,5 * x^2$	0,98	0,0001

R² = coeficiente de determinación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso R., Serrano A. 2004. Economía de la empresa agroalimentaria. Ed Mundi Prensa, 383 pp.
- Daza A., González M. 1997. Archivos de Zootecnia, 46, 347-355.
- Daza A. 1999. Producción de vacuno de carne en la Dehesa. Monografía Bovis, 87, Ed Luzán, 100 pp.
- INRA. 1988. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. Ed Mundi Prensa, 432 pp.
- Jiménez Mozo (coordinador). 1986. En: Conservación y desarrollo de las dehesas portuguesa y española (Coord. P. Campos y M. Martín), Ed MAPA, pp 51- 86.
- López de Torre G., García L.J. 1986. En: Conservación y desarrollo de las dehesas portuguesa y española (Coord. P. Campos y M. Martín), Ed MAPA, pp 143-163.
- Rodríguez R., López Carrasco C., Blázquez M.A. Zuzuarregui J. 1995. ITEA, Vol Extra nº 16, Tomo I, 395-397.

IMPACTO ECONÓMICO DE COMPLEJOS VITAMÍNICOS CON O SIN IVERMECTINA SOBRE LA GANANCIA DIARIA DE PESO EN MAUTAS MESTIZAS BRAHMAN

R. Vitto, J. Añez y J. Ciria
 Decanato de Investigación. Dpto. de Ing. de Producción Animal.
 Universidad del Táchira. Venezuela.
jrvitto@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

El rebaño bovino venezolano se ha caracterizado por un comportamiento productivo y reproductivo deficiente si se consideran los diferentes parámetros indicativos de tal situación, lo cual es consecuencia de los múltiples problemas tecnológicos tales como nutrición, reproducción, incidencia de enfermedades y problemas de selección y apareamiento que comprometen la obtención de máximos rendimientos en la producción de carne y leche (Montilla y Colina, 1998).

Por lo tanto la búsqueda de alternativas viables orientadas al mejoramiento de los parámetros productivos y aumento de la eficacia, es inminente y necesaria (Montilla y Colina, 1998). Así, este ensayo pretende evaluar el impacto económico que sobre la ganancia de peso tengan diversos productos vitamínicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo fue realizado en la Agropecuaria Lara Linda C. A. la cual se encuentra en la carretera vía La Ceiba, frente a la población llamada El Km17. del estado Trujillo, Venezuela.

El ensayo se efectuó con un total de setenta mautas mestizas Brahman distribuidas al azar en siete lotes de diez animales cada uno y agrupadas de la siguiente forma: T-0, grupo testigo, animales con el manejo habitual de la Hacienda sin la aplicación de medicamentos. T-1, mautas a las cuales se les aplicó vitamina AD₃E. T-2, utilización de vitamina AD₃E e ivermectina. T-3, lote de mautas con modificador orgánico. T-4, aplicación de modificador orgánico e ivermectina. T-5, mautas bajo administración de ivermectina. T-6, animales con ivermectina vitaminada. El análisis de los datos se realizó mediante un diseño de medidas repetidas con un factor entre sujetos y una covariable (Ravindra y Dayanad, 1999).

El factor es la aplicación de los tratamientos y la variable o respuesta evaluada es la GDP a través del paquete estadístico llamado SAS[®] determinándose si existen o no diferencias significativas estadísticamente de los tratamientos respecto al grupo control y el modelo matemático utilizado se describe a continuación:

$$Y = X\beta + Z\Gamma + \varepsilon$$

Donde: **Y**= Matriz asociada a la ganancia diaria de peso. **X**= Representa la matriz del diseño. **B**= Representa el vector de parámetros desconocidos. **Z**= Representa la matriz de las covariables. **F**= Representa los coeficientes de regresión asociados a la variable. **ε**= Error residual. Para el análisis de los tratamientos sobre el tiempo de engorde se consideró, el peso de salida de los animales a matadero de la unidad de producción (380 kg), la ganancia diaria de peso y los pesos iniciales de cada uno de los grupos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico no señaló diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos a lo largo del ensayo

Efecto de los tratamientos sobre el tiempo de engorde

Tomando en consideración el peso de matanza (380 kg), los pesos iniciales y las ganancias diarias de peso para cada uno de los grupos experimentales, quien mejor

comportamiento reflejó fue el T-5 (Ivotan[®] L.A.), el cual considerando su mayor ganancia de peso (0,408 kg/día) durante el ensayo, duraría 439 días en la Hacienda, representando 134 días menos en relación al T-0.-Mientras que los tratamientos T-6, T-1, T-4 y T-2 obtendrán el peso de salida a matadero en 102, 101, 98 y 96 días antes, respecto al T-0, respectivamente, lo que podría asumirse como un comportamiento similar entre ellos. El grupo experimental de peor crecimiento fue T-3, el cual reportó una ganancia diaria de peso de 0,332 kg, por lo tanto estos animales permanecerán 29 días menos en la unidad de producción.

Relación costo - beneficio

Como se observa en el Gráfico 1, el grupo experimental de mejor relación costo beneficio fue T-1 con 0,023 € / euro invertido, los tratamientos T-6, T-5 y T-2 enseñaron retorno económico de 0,008; 0,007 y 0,004 euros percibidos por cada euro invertido. Por su parte T-4 y T-3 presentaron una relación costo beneficio de € 0,002 y 0,001 euros percibidos / euro invertido, respectivamente.

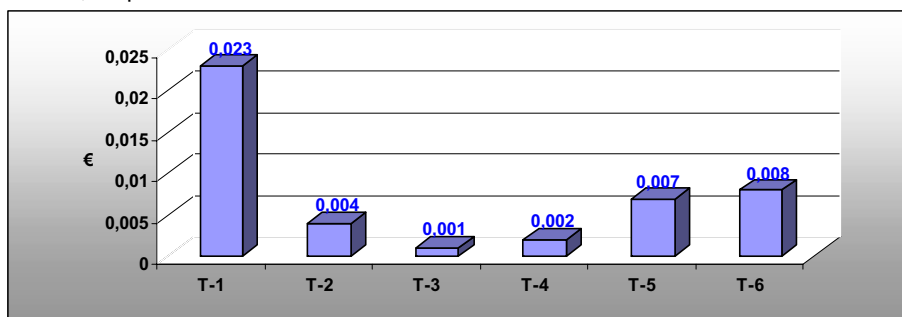


Gráfico 1. Relación costo – beneficio.

Estos resultados son similares a los obtenidos por León (2003) quien reportó una relación costo beneficio, en las ivermectinas (1%) Kumec[®]AD₃E, Kiver[®] e Ivomec Gold[®] de 0,011, 0,009 y 0,007 euros percibidos / euro invertido, y a los de Camero (2004) quien logró tasa de retorno de capital de € 0,0008 y 0,0005 evaluando el uso de implantes con Dectomax[®].

Ingreso neto adicional

En el Cuadro 2, se observa que el grupo experimental T-5 fue el de mejor comportamiento, al obtener € 7,77 respecto a T-0, seguido por los tratamientos T-1, T-6, T-2, T-4 y T-3 los cuales evidenciaron un ingreso neto adicional de euros 5,52; 5,14; 4,9; 4,19 y 1,26; respectivamente.

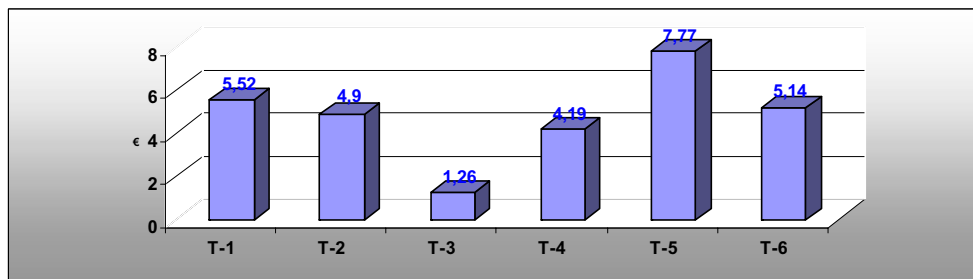


Gráfico 2. Ingreso neto adicional.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, comparado con los reportados por León (2003), difieren para una ivermectina y coinciden para dos, donde el Kiver[®]

(Ivermectina 1%) presentó ingreso neto adicional de euros -1,227; mientras que el Kumec®AD₃E (Ivermectina 1%) e Ivomec Gold® (Ivermectina 3,15%) alcanzaron ingreso neto adicional de € 8,673 y 100,169; respectivamente, en relación al grupo tradicional, coincidiendo además con lo señalado por Camero (2004) y Gutiérrez (1998), quienes obtuvieron resultados similares trabajando con bovinos y ovinos, respectivamente.

En cuanto a T-6, T-2 y T-4 la aplicación de estos tratamientos es económica y productivamente viable, ya que incrementan los ingresos y el ritmo de crecimiento de los animales, presentando valores similares entre si.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- CAMERO, J. 2004. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 48-64 p.
- CHICCO, F. GODOY, S. y N. OBISPO. 1998. XIV Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp 89- 116.
- GUTIÉRREZ, R. 1998. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 43 p.
- MONTILLA, J. y J. COLINA. 1998. XIV Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp 22- 35.
- MONTONI, D. 1990. VI Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp 1- 29.
- LEÓN, L. 2003. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 21 p.

ESTUDIO DE LA PRODUCTIVIDAD DE CABRAS CRUZADAS EN UN SISTEMA SEMIEXTENSIVO EN LA COMARCA DE VERA (CÁCERES)

Caballero de la Calle, J.R.; Calle, M.I.; Incera, J.M.

⁽¹⁾ E.U. de Ingeniería Técnica Agrícola. UCLM. Ronda de Calatrava 5. Ciudad Real 13071.

INTRODUCCIÓN

La explotación del ganado caprino lechero, debido a su pequeño formato, a su agilidad y su habilidad para el pastoreo, ha estado tradicionalmente vinculada a zonas de bajo potencial productivo aprovechando áreas áridas o semiáridas, con relieves accidentados y pastos pobres de escaso valor nutritivo y al mantenimiento de ecosistemas y de la población rural en los países industrializados (Mena *et al.*, 2005).

En los últimos diez años se ha producido en España una reducción importante de la cabaña caprina nacional. Este descenso se ha producido fundamentalmente en las regiones de Extremadura y Castilla-La Mancha. Por otra parte, se ha originado en estas regiones una mejora en la calidad de las razas, ya que las tradicionales Serrana o Verata se han sustituido por la Murciana Granadina, la Malagueña o por animales cruzados con ellas intentando mejorar la producción de leche.

La producción caprina se asocia a sistemas extensivos de producción (Caballero de la Calle y Buxadé, 1996), sin embargo, la mejora progresiva del ganado ha generado la necesidad de variar los sistemas productivos, sobre todo a nivel de alimentación, sanidad e instalaciones. Estos avances técnicos han mejorado la economía de las explotaciones y han dignificado al ganadero, aunque no han sido suficientes para hacer atractiva esta actividad.

El objetivo de nuestro trabajo es la caracterización de una explotación caprina semiextensiva de producción de leche cuya base animal son animales cruzados, situada en una zona tradicional de ganado caprino en franca regresión.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se desarrolla en una explotación semiextensiva de ganado caprino situada en la comarca de la Vera de la provincia de Cáceres. Esta ganadería procede de una reconversión desde un sistema extensivo de escasas inversiones. El cambio de ubicación del núcleo productivo desde los parajes serranos a las proximidades del área urbana originó una reducción del número de animales y una modificación en el sistema productivo.

La explotación consta de un rebaño de 70 cabras cruzadas de varias razas (Verata, Malagueña y Alpina) y 3 machos de raza Alpina. La alimentación se basa en un pastoreo tradicional en superficies de pastos de secano arrendados y los animales son suplementados durante el ordeño.

El régimen reproductivo es de monta continua con una reposición del 20% y una prolificidad de 2,1. La crianza del cabrito durante tres semanas se realiza a media leche. La duración de la lactación es de 8 a 9 meses. Se realiza ordeño manual y la leche producida se comercializa en la cooperativa de la comarca. La explotación dispone de tanque de frío y electricidad.

Durante cuatro años (2003-2006) controlamos la producción y la calidad de la leche en la ganadería. Se estiman y analizan las posibles variaciones existentes mediante el programa estadístico SPSS 14.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción media anual de la explotación durante el periodo en estudio fue de 43.955,5±825,17 litros, no habiendo diferencias significativas entre años lo que indicaría una buena estabilización del manejo en la ganadería (Tabla 1). Esto nos supone una producción

media de $627,94 \pm 11,76$ litros por cabra para ordeños aproximados de 247 días. Estos resultados son similares a los obtenidos por Sanchez *et al.* (2004), si bien en la raza Florida.

Tabla 1. Producción anual de la explotación

Año	N	Litros
2003		44.012
2004		43.321
2005	70	43.416
2006		45.073
Media		$43.955,5 \pm 825,17$

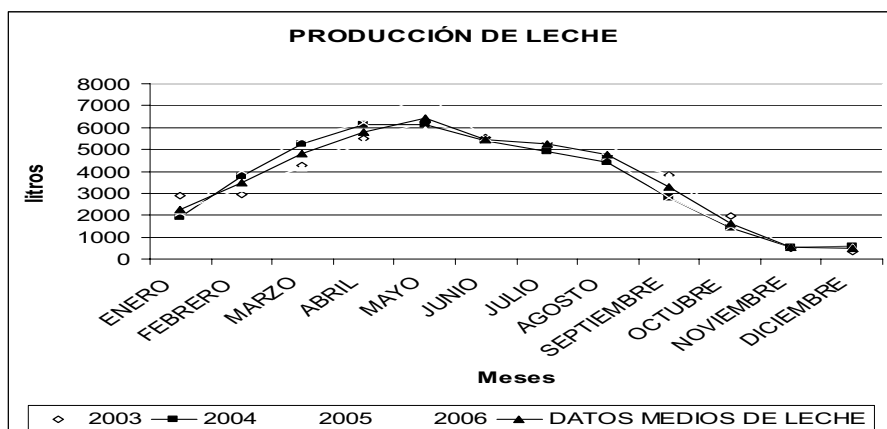
La producción media mensual obtenida en el grupo fue de $3.850,57 \pm 204,35$ litros, aunque su distribución no es homogénea a lo largo de todo el año. No hay diferencias significativas entre los años estudiados. Se observa una estacionalidad de la producción concentrándose ésta fundamentalmente en los meses de primavera y verano, pese a que hay leche en todas las épocas (Tabla 2).

Tabla 2. Producción media estacional de la explotación durante el periodo en estudio

Época del año	Litros
Invierno	$10.573,75 \pm 207,51$
Primavera	$17.244 \pm 145,25$
Verano	$13.826 \pm 182,72$
Otoño	$2.837 \pm 78,24$

En el Gráfico 1 se muestra como la producción más importante se encuentra durante el mes de mayo con más de seis mil litros y los mínimos corresponden a noviembre y diciembre con menos de mil litros mensuales. En el trabajo de Sánchez-Palma y Serradilla (1996), ya aparece reflejada esta estacionalidad asociada a sistemas de producción semiextensivos.

Gráfico 1. Producción media y anual de leche en la explotación



El porcentaje medio de grasa y proteína en la leche producida por el rebaño es de $4,45 \pm 0,04\%$ y $3,46 \pm 0,22\%$ respectivamente. La composición media general de la leche para el conjunto de los años en estudio aparece reflejada en la Tabla 3 no habiendo diferencias significativas entre años. Estos resultados son similares a los encontrados en otras razas autóctonas con sistemas de explotación parecidos (Sanchez *et al.* 2006) y algo más bajos

que los obtenidos por Caballero de la Calle *et al.* (2006) en cabras cruzadas con Murciano Granadina ordeñadas a mano.

Tabla 3. Composición media de leche

Año	% Grasa	% Proteína
2003	3,59	3,15±0,24
2004	4,64	3,86±0,35
2005	4,38	3,57±0,61
2006	3,40	3,43±0,28
Media	4,45±0,04	3,46±0,22

Finalmente la caracterización higiénica de la leche definida por bacteriología nos indica unas cifras muy aceptables (Tabla 4) y bastante mejores de las indicadas por Delgado-Pertiñez *et al.* (2003) en sistemas semiextensivos.

Tabla 4. Calidad higiénico-sanitaria de la leche

Año	Nº células/ml
2003	181.649,54
2004	135.947,50
2005	92.161,72
2006	180.766,91
Media	147.631,10

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Caballero de la Calle, J.R.; Buxadé, C.; (1996). El subsector caprino en España. En Zootecnia: Bases de la Producción Animal. Tomo IX. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Caballero de la Calle, J.R.; Remón, P.; Peña, J.C.; Calle, M.I. (2006). Influencia del tipo de ordeño, el régimen de explotación y la estación del año sobre la composición química de la leche producida en rebaños de cabras cruzadas con Murciana Granadina. XXXI Jornadas Científicas de la SEOC. Zamora.
- Delgado-Pertiñez, M.; Alcalde, M.J.; Guzmán-Guerrero, J.L.; Castel, J.M.; Mena, Y. Caravaca, F. (2003). Effect of hygiene sanitary management on gota milk quality milk in semi-extensive systems in Spain. Small ruminants research, 47 (51-61).
- Mena, Y.; Castel, J.M.; Caravaca, F.P.; Guzman, J.L.; González, P. (2005). Situación actual, evolución y diagnóstico de los sistemas semiextensivos de producción caprina en Andalucía Centro-Occidental. Junta de Andalucía.
- Sanchez, M.; Fernández, E.; Martín, D.; Muñoz, E. (2006). Influencia de época y número de parto en los parámetros de producción y calidad de leche en la raza Florida. XXXI Jornadas Científicas de la SEOC. Zamora.
- Sanchez, M.; Muñoz, E.; García, J. (2004). Producción de leche en la raza Florida. XXIX Jornadas Científicas de la SEOC. Lleida.
- Sánchez-Palma, A.; Serradilla, J.M. (1996). Programas de selección aplicados al ganado caprino. ITEA vol. 92A nº 3 (117-141).

ANÁLISIS DE FACTORES DE VARIACIÓN DE LA PRODUCCIÓN LÁCTEA EN GANADO OVINO DE LAS RAZAS CASTELLANA Y ASSAF

C. Palacios¹, L. F. de la Fuente².

¹ Dept. Construcción y Agronomía. Fact. Ciencias Agrarias y Ambientales. Universidad de Salamanca. Filiberto Villalobos, 119. Salamanca. carlospalacios@colvet.es

² Dept. Producción Animal. Fact. Veterinaria. Universidad de León. f.fuente@unileon.es

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los factores que afectan a la producción láctea es de gran interés, pues permite profundizar en el conocimiento de los sistemas de producción y buscar un incremento de la rentabilidad. Dentro de estos factores la intensificación reproductiva, Palacios et al. (2004) y la interacción entre la reproducción y la producción de leche es determinante para poder establecer las pautas adecuadas de manejo en estas explotaciones.

En el presente trabajo estudiaremos el efecto de algunos factores cómo la explotación, el año de parto, el mes de parto, el número del parto, tipo de parto en función del número de crías, etc. sobre la producción lechera, en dos población de ovejas de las razas Castellana y Assaf, con características productivas muy diferentes.

MATERIAL Y METODOS

Se ha utilizado una base de datos procedente de una población de 20.419 ovejas de las cuales son 16.776 de raza Assaf y 3.643 de raza Castellana, identificadas con crotales, tatuajes y bolos ruminales con transponders electrónicos. La población está distribuida en 46 ganaderías de la comunidad de Castilla y León. La información asociada al parto ha sido recogida por los ganaderos y después informatizada, junto con los controles lecheros que se realizan en el seno de asociaciones nacionales de raza pura de Assaf y Castellana. Calculamos, con el método del control lechero oficial, la producción lechera estandarizada a 150 días. La fecha de cubrición la estimamos en función del parto siguiente, con un margen máximo de espera de 13 meses siguientes al parto previo, tomando 148 días de gestación. Se ha seleccionado la información asociada a 49.945 partos durante los años desde 1998 hasta el 2003. De estas lactaciones, 39.069 son de ovejas de raza Assaf y 10.876 de ovejas de raza Castellana.

El análisis se llevó a cabo con un modelo lineal para el carácter producción láctea por lactación. Se resolvió utilizando el procedimiento GLM del SAS. EL modelo fue el siguiente:

$$Y_{ijklmno} = \mu + GA_i + AP_j + MP_k + NP_l + TP_m + IPC_n + e_{ijklmno}$$

donde: $Y_{ijklmno}$ = Producción láctea por lactación estandarizada entre 0 y 150 días de lactación, μ = media general; GA_i = efecto fijo de la ganadería i; AP_j = efecto fijo del año de parto, j = (1998-2003); MP_k = efecto fijo del mes de parto, k = (1-12). NP_l = efecto fijo del n° de parto de la madre, l = (1,2,...,7) correspondiente a 7 clases consecutivas desde 1^{er} parto a 7° o más partos, TP_m = efecto fijo del tipo de parto, m=(1=simple, 2=multiple), IPC_n = efecto fijo del intervalo parto cubrición medido en meses, n = (1, 2, ...,13) correspondiente a 13 clases consecutivas desde 1 mes al 13 o mas de 13, $e_{ijklmno}$ = efecto residual aleatorio. La contribución de los factores estudiados a la varianza total observada en la muestra estudiada, fue determinada por medio del procedimiento VARCOMP del SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los factores estudiados que afectan significativamente a la producción lechera se presentan en la tabla 1.

Es sorprendente el escaso porcentaje de varianza explicado por el modelo; el factor con mayor porcentaje de la varianza explicada corresponde a los factores ganadería y año de producción. Si comparamos estos resultados con los obtenidos para vacas del norte de Tunes por Kaabi (1999), el efecto ganadería en el caso de las ovejas Assaf explica el 17% de la varianza y en el caso de las ovejas castellanas lo hace en un 10%, frente al 48 % que afecta en el caso del vacuno tunecino, en este caso se esperan grandes variaciones de las condiciones de cada ganadería como estructuras, manejo, alimentación, control etc., que son mínimas en el caso de las ganaderías de ovejas castellanas.

Tabla 1. ANOVA para el carácter leche150 en las razas Castellana y Assaf

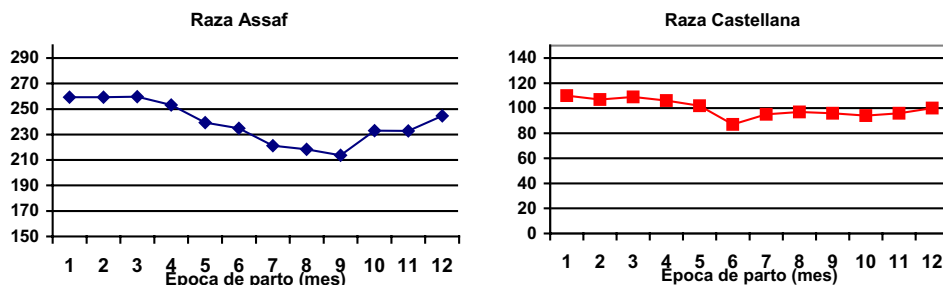
Fuente de variación	G.I.	Raza Assaf			%	Raza Castellana			% Varianza
		Valor F	Pr > F			Valor F	Pr > F		
Ganadería	40	174,57	<0,0001		17,2%	4	121,41	<0,0001	9,29
Año de parto	5	16,94	<0,0001		5,36%	5	32,13	<0,0001	7,34 %
Mes de parto	11	63,06	<0,0001		1,9%	11	18,21	<0,0001	2,27 %
Nº de parto	7	74,85	<0,0001		3,57%	6	42,61	<0,0001	1,97 %
Tipo de parto	1	325,28	<0,0001		1,38%	1	111,12	<0,0001	1,79 %
Inter. parto-cubrición	12	62,30	<0,0001		3,75%	12	8,78	<0,0001	
Residual					66,84%				1,02 %
Modelo	76	90,06	<0,0001			39	48,34	<0,0001	72,19 %

El año de parto tiene poco efecto en la producción lechera de las ovejas y nula en las vacas, posiblemente por las variaciones climatológicas entre los años estudiados. El mes de parto representa el 4 % en vacuno y el 2 % en ovino, también tendrá variación en función de las diferencias estacionales o picos de altas y bajas temperaturas a lo largo de los meses del año. El número de parto o de lactación representa el 13 % de la varianza en vacuno tuncino y para las ovejas es mucho menor entre el 3 % y el 2 %, las ovejas serán más estables y aunque las mejores lactaciones son las comprendidas entre la 2ª y la 5ª en ambas especies, la diferencia de producción en vacuno es mucho más importante que en el ovino. El tipo de parto representa 1,79% en ovejas castellanas, las ovejas las de raza Assaf tienen un porcentaje del 1,38%. El intervalo parto cubrición o en vacuno los días abiertos, representa el 3% de la varianza frente al 4% de las ovejas Assaf y el 1% de las ovejas castellanas. El efecto máximo lo tienen en las producciones de la oveja Assaf y es casi inexistente en el caso de las castellanas. Esta situación nos hace entre ver que el efecto de cubrir a los animales no afectará de manera importante a la producción lechera de la lactación actual y en el caso de las ovejas castellanas prácticamente no tienen ningún efecto.

Influencia del mes de parto.

Los resultados de producción en función del mes de parto son muy interesantes sobre todo en el caso de las ovejas Assaf, las mayores producciones se obtienen en las ovejas que paren en los primeros meses del año, primavera y posteriormente descienden en las ovejas paridas en otoño con pérdidas máximas respecto al mejor mes de 41 litros, para luego empezar a ascender de nuevo. Lo que se repite en ganado vacuno Kaabi (1999), en ganado caprino malagueño Castel et al. (2005) y en el ovino en ovejas griegas por Avdi y Chemineau (1998). Sin embargo, aunque también ocurre en el ganado castellano lo hace en un margen mucho más pequeño con diferencias máximas de 15 litros de la mayor producción.

Figura 1: Influencia del mes de parto sobre la Producción de leche.



Influencia del tipo de parto.

La influencia del tipo de parto se presenta en la Tabla 2. Se aprecian diferencias significativas de aproximadamente el 9 % entre las ovejas que paren dos corderos y las que tienen un parto simple, este efecto se ha descrito también en diferentes razas de ganado caprino Vega et al. (1999), Subires et al. (1987), Gutierrez et al. (1995). En ganado ovino también se ha observado en ovejas de raza manchega (Rodríguez et al., 2002), Kaabi et al.(2000), en raza Assaf de Pollot et al.(2004) y en razas americanas por Cardellino et al. (2002).

Tabla 2. Influencia del tipo de parto sobre la producción láctea.

Raza	Parto simple	Parto doble	Diferencia	Pr >t
Assaf	229,29±4,00	248,97±4,03	19,68 (8,23 %)	<0,0001
Castellana	95,32±5,08	104,43±5,08	9,11 (9,12 %)	<0,0001

CONCLUSIONES

De los factores estudiados, tan sólo la ganadería y el año de parto tienen una importancia reseñable frente a la producción lechera, los factores reproductivos como el número de parto y el intervalo parto cubrición representan una varianza muy pequeña frente a los objetivos lecheros en ambas razas, lo cual no debe de ser un freno a la hora de planificar los rebaños de producción de leche de aptitud mixta o en régimen intensivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AVDI, M; P. CHEMINEAU. Reproductive and productive performance in Chios ewes mated in spring or in autumn. *Reprod. Nutr. Dev.* 1998. Vol 38(5).551/558.
- CADELLINO, R.A; BENSON, ME; Lactation curves of commercial ewes rearing lambs. *J. Anim.Sci.* 2002 vol 80(1).23-27.
- CASTEL, J.M; MICHEO, J.M; FERNANDEZ, V; SANCHEZ, A.2005. Influencia de distintos factores en la cantidad y calidad de la leche producida por cabras de raza malagueña. XXX Jornadas SEOC. 338-340.
- GUTIERREZ, M.J; GARCÍA, T; RODERO, E; PEÑA, F; HERRERA, M. Efecto del tipo y número de parto sobre la producción de leche de cabras murciano granadinas. XX Jornadas SEOC.1995,515-520.
- KAABI, M; ABRANG, B; ANEL, L; ALVAREZ, M; ANEL, E; DE LA FUENTE, L.F; BEN HAMONDA, M; ROVISSI, H. VII Jornadas de Prod. Anim. (ITEA) Vol Extra 20. Tomo II. 1999. 780-782.
- PALACIOS, C; MARTÍN, S; ABECIA, J.A; FORCADA, F; VALARES, J.A; PALACIN, L; DELETANG, F; MARTINO, A. Influencia de la intensificación reproductiva en las producciones cordero y leche por oveja obtenidas en rebaños Assaf. XXIX Jornadas SEOC.2004.117-119.
- POLLOT, G.E; GOOTWINE, E. 2004. Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *J Dairy Sci* 2004 Nov; Vol. 87 (11), pp. 3690-703.
- RODRIGUEZ GARCIA, H; HIDALGO,M; ALTHANS, R; MOLINA, P; PERIS, C; FERNANDEZ, N. Primeros resultados de producción y composición de leche en oveja Guirra. XXVII Jornadas SEOC.2002.913-918.
- SUBIRES, J; LARA, L; FERRANDO, G; BOZA, J. Influencia del tipo de parto y de la edad en la producción de leche de la cabra de raza malagueña. XII Jornadas SEOC.1987.235-241.
- VEGA, J.F; PEÑA,F; SANCHEZ, M. Estudio de efectos fijos sobre la producción de leche en la cabra Florida. XXIV. Jornadas SEOC.1999.135-139.

RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y LA RETENCIÓN DE BOLOS RUMINALES UTILIZADOS EN LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA DE CAPRINO

Carné, S., Caja, G., Ghirardi, J. J., Salama, A. A. K.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, gerardo.caja@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La utilización de bolos electrónicos ruminales se ha mostrado como un método seguro y adecuado para el control individual de rumiantes (Caja *et al.*, 1999), siendo fácil de aplicar, fiable y de fácil recuperación en matadero (Caja *et al.*, 1999; Lambooij *et al.*, 1999; Ribó *et al.*, 2003). Se ha demostrado la especial importancia de las características físicas (peso, volumen y gravedad específica) de los bolos en la optimización de su retención en los preestómagos de los rumiantes, especialmente cuando se utilizan bolos de reducidas dimensiones (Ribó *et al.*, 1994; Ghirardi *et al.*, 2006ab; Garín *et al.*, 2005). Así, en el caso de las especies bovina y ovina, se han obtenido los respectivos modelos de retención de los bolos ruminales en función de sus características (Ghirardi *et al.*, 2006ab). Además, un modelo generalizado para ambas especies ha sido propuesto por Caja *et al.* (2006). Sin embargo, en la especie caprina se observa una gran variabilidad en la retención de los bolos ruminales, tal como se señaló en el proyecto IDEA (Ribó *et al.*, 2003; San Miguel *et al.*, 2005) y en posteriores experiencias en diferentes razas caprinas en España (Ribó *et al.*, 1994; Caja *et al.*, 1999; Capote *et al.*, 2005; Carné *et al.*, 2005).

Este hecho queda reflejado en el RD 947/2005 (BOE, 2005), que obliga a identificar electrónicamente a ovinos y caprinos con un bolo electrónico a partir de 2008, pero que contempla el uso excepcional (previa autorización explícita) de transpondedores inyectables en el caprino. El objetivo del presente trabajo es el estudio de un modelo de predicción de la retención de bolos ruminales en función de sus características físicas para la especie caprina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 1.725 bolos electrónicos, correspondientes a 15 tipos distintos de bolos comerciales y prototipos (Tabla 1). Los bolos comerciales estaban fabricados con material cerámico de elevada gravedad específica. En el caso de los prototipos se utilizaron nuevos diseños en material cerámico y tubos plásticos rellenos de diferentes materiales (silicona, cemento y/o lastres metálicos). De este modo se obtuvo una gran variabilidad en las características de los dispositivos, que variaron en longitud (37-84 mm), diámetro (9-22 mm), peso (5-110 g; P), volumen (2.6-26 ml; V) y gravedad específica (1-4.3; GE).

Todos los bolos contenían un transpondedor pasivo de 32 × 3.8 mm, tecnología half-duplex de radiofrecuencia a 134.2 kHz y encapsulado en vidrio (fabricantes: Allflex, Vitré, Francia; Innoceramics, Teramo, Italia; Rumitag, Barcelona). Los bolos se aplicaron a caprinos adultos y de reposición pertenecientes a 4 rebaños de raza Murciano-Granadina (aptitud lechera) (S1GCE de la UAB, Barcelona; Ramadería J.L. Casanueva, Barcelona; El Garet, Girona) y 1 rebaño de raza Blanca de Rasquera (aptitud cárnica) (Ramadería S. Miralles, Tarragona). Tres de los rebaños de Murciano-Granadina se manejaban en estabulación permanente y condiciones intensivas de alimentación, mientras que el rebaño restante efectuaba salidas diarias al pasto y se suplementaba en el aprisco. El rebaño de Blanca de Rasquera se explotaba en condiciones extensivas en pastos forestales de sierra y con suplementación puntual en épocas de partos.

La aplicación de los bolos se realizó por operarios entrenados, inmovilizando cada animal en los corrales o en una manga de manejo, y utilizando aplicadores adaptados al tamaño de cada bolo. Los animales nacidos con posterioridad al 9 de julio de 2005 se identificaron con un bolo y un crotal con el mismo código de acuerdo al RD 947/2005 (BOE, 2005). El resto de animales estaban previamente identificados con un crotal plástico, cuyo código se vinculó al del bolo, tras la aplicación. Se realizaron controles de lectura a los 7 y 30 d post-aplicación, y posteriormente cada 2 meses. La lectura de los bolos se realizó en condiciones estáticas, con los animales inmovilizados en sala de ordeño o en mangas de manejo, mediante el uso de lectores manuales (Gesreader 2S; Rumitag, Barcelona) conectados a antenas de tipo bastón (Rumitag). En caso de detectar una pérdida se aplicó un tipo diferente de bolo.

Los datos obtenidos corresponden a lecturas entre 2 meses y 2 años post-aplicación, en función del tipo de bolo y explotación. Los datos de retención se ajustaron a un modelo no lineal utilizando el peso (P) y volumen (V) de los bolos como covariables, mediante el procedimiento NLIN de SAS v. 9.1 (SAS Inst., Cary, N. Carolina, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron signos de malestar durante o posteriormente a la aplicación de los distintos tipos de bolos. La aplicación efectiva de un bolo de 26 ml de volumen indica la posibilidad de aplicar, en caprino, dispositivos de mayores dimensiones a los actualmente utilizados en ovino. El rango registrado de pérdidas abarcó el intervalo de 0 a 100%, dependiendo de las características de los bolos (Tabla 1). Únicamente los bolos más pesados, de 110 g (tipo 15; Tabla 1), mostraron una retención superior al 99%, lo que apunta la necesidad de aplicar dispositivos de mayor peso en esta especie respecto a bovino (65 g; Ghirardi *et al.*, 2006a) y ovino (20 g; Garín *et al.*, 2005; Ghirardi *et al.*, 2006b), con el fin de conseguir la retención mínima de dispositivos (>98%) recomendada por ICAR (2005). Con el fin de conseguir un incremento total de la GE, el bolo más pesado (tipo 15) contenía un lastre metálico de aproximadamente 30 g, lo que no impidió la lectura de todos los dispositivos en sala de ordeño.

Tabla 1. Características de los bolos ruminales utilizados y resultados de retención en caprino adulto y de reposición.

Tipo	P (g)	V (ml)	GE	Dispositivos, n°				Retención (%)
				Aplicados	Controlados	Retenidos	Perdidos	
1	5.3	5.1	1	20	20	0	20	0
2	9	2.6	3.4	45	35	21	14	60
3	13.7	3.9	3.5	66	54	34	20	63
4	20.1	5.2	3.9	476	446	363	83	81.4
5	35.4	21.9	1.6	30	29	1	28	3.4
6	46.2	22.2	2.1	28	27	5	28	18.5
7 ¹	51.6	14.4	3.6	56	48	44	4	91.7
8	53.7	15.4	3.5	24	22	18	4	81.8
9 ²	64.9	18.1	3.6	50	45	43	2	95.6
10	72.5	18.9	3.9	258	239	225	14	94.1
11 ³	75	22.3	3.4	252	215	187	28	87
12	82.1	22.6	3.6	198	185	175	10	94.6
13	80.6	19.8	4.1	150	137	125	12	91.2
14	84	22.5	3.7	30	28	27	1	96.4
15	110.8	26	4.3	25	25	25	0	100

¹Innoceramics (Teramo, Italia); ²Allflex (Vitré, Francia); ³Rumitag (Barcelona)

El conjunto de datos obtenidos permitió construir un modelo no lineal de predicción de la retención de los bolos, dependiente del peso y volumen de cada tipo de bolo. El modelo obtenido fue el siguiente ($R^2 = 0.956$; $P < 0.001$):

$$\text{Retención (\%)} = 100 / (1 + 0.809 e^{0.879 V - 0.283 P})$$

La representación gráfica del modelo y los datos de origen se muestran en la Figura 1. Se observó una correlación de tipo exponencial ($r = -0.84$; $P < 0.01$) entre la gravedad específica y el peso de los bolos para una determinada retención predicha, por lo que el diseño de bolos de menor volumen implica necesariamente un incremento de la gravedad específica de los mismos. Esto queda reflejado en la Figura 1, donde se observa que el aumento de peso de los dispositivos se correspondió con un aumento de la retención. Asimismo, a un mismo peso considerado, la retención aumentó al disminuir el volumen, lo que se corresponde con un aumento de la gravedad específica del bolo. De acuerdo a la predicción realizada por el modelo, el peso y gravedad específica mínimos para la obtención de un bolo estándar (22 ml) con una retención superior al 99% fue de 95 g y 4.32, respectivamente. La próxima incorporación de nuevos datos ha de permitir mejorar la precisión en la capacidad de predicción del modelo.

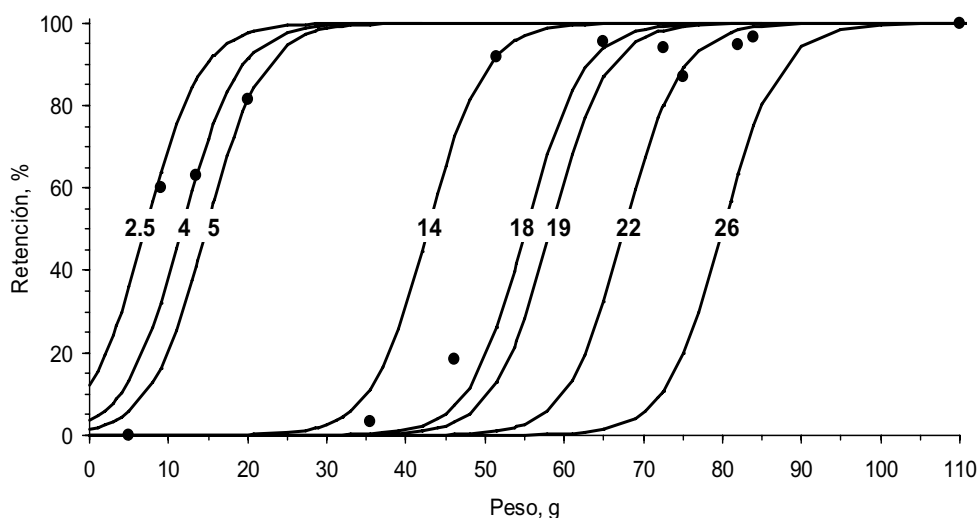


Figura 1. Retención de bolos ruminales en función de su peso y volumen (—, ml) en ganado caprino adulto y de reposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOE (Boletín Oficial del Estado). 2005. Real Decreto 947/05. Nº 181 de 30-7-2005
- Caja, G., Conill, C., Nehring, R., Ribó, O. 1999. Development of a ceramic bolus for the permanent electronic identification of sheep, goat and cattle. *Comp. Electr. Agric.* 24:45-63.
- Caja, G., Ghirardi, J.J., Casellas, J., Carné, S., Hernández-Jover, M., Garín, D. 2006. A general model for predicting the retention of electronic boluses in the forestomachs of cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 84, Suppl. 1/*J. Dairy Sci.* 89, Suppl. 1, 397
- Capote, J., Martín, D., Castro, N., Muñoz, E., Lozano, J., Carné, S., Ghirardi, J.J., Caja, G. 2005. Retención de bolos ruminales para identificación electrónica en distintas razas de cabras españolas. ITEA, 26, 297-299.
- Garín, D., Caja, G., Conill, C. 2005. Performance and effects of small ruminal boluses for the electronic identification of fattening lambs. *Livest. Prod. Sci.* 92:47-58.
- Ghirardi, J.J., Caja, G., Garín, D., Casellas, J., Hernández-Jover, M. 2006a. Evaluation of the retention of electronic identification boluses in the forestomachs of cattle. *J. Anim. Sci.* 84:2260-2268.
- Ghirardi, J.J., Caja, G., Garín, D., Hernández-Jover, M., Ribó, O., Casellas, J. 2006b. Retention of different sizes of electronic identification boluses in the forestomach of sheep. *J. Anim. Sci.* 84:2865-2872.
- ICAR. 2005. International Agreement of Recording Practices. Guidelines approved by the General Assembly held in Sousse, Tunisia, June 2004, International Committee for Animal Recording. Rome, Italy
- Lambooij, E., Klooster, C.V., Rossing, W., Smits, A. 1999. Electronic identification with passive transponders in veal calves. *Comp. Electr. Agric.* 24:81-90
- Ribó, O., Caja, G., Nehring, R. 1994. A note on electronic identification using transponders placed in permanent ruminal bolus in sheep and goats. FEOGA Research Project, Final Report, Vol. I, Exp. UAB-01/2.6, 7 pp.
- Ribó O., Cuypers M., Korn C., Meloni U., Centioli G., Cioci D., Ussorio A., Veran J. IDEA Project, large scale project on livestock electronic identification. Final Report. v.3.0. 2003.
- San Miguel O., Caja G., Nehring R., Miranda F., Merino J.A., Almansa V., Lueso M.J. 2005. Results of the IDEA Project on cattle, sheep and goats in Spain. EAAP publication No 113. p. 357-359.

SISTEMAS DE MANEJO DEL TERNERO EN REBAÑOS DE VACAS NODRIZAS CON PARTO EN INVIERNO. 1. RESULTADOS PRODUCTIVOS

Sanz A., Álvarez-Rodríguez J., Palacio J., Casasús I., Revilla R.
Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Apdo. 727. 50080 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

Las explotaciones de vacas nodrizas del Pirineo Central han incrementado en los últimos años la dimensión de sus rebaños y la superficie forrajera disponible, permitiendo en la actualidad un mayor aprovechamiento de los pastos (García *et al.*, 2005) y respondiendo así a la nueva coyuntura económica de la Unión Europea.

Esta situación ha obligado a modificar el manejo tradicional del ternero durante la lactación, cuyo acceso a la madre se restringía a uno o dos periodos diarios de corta duración, hacia la permanencia continua con ésta en el pasto.

Diversos trabajos han evidenciado diferencias raciales en los resultados productivos de rebaños lactantes durante el período de estabulación invernal (Villalba *et al.*, 2000; Sanz *et al.*, 2003), el pastoreo de praderas en primavera (Casasús *et al.*, 2000) y el conjunto de la estación de pastoreo (Casasús *et al.*, 2002) en dos de las razas bovinas comúnmente explotadas en los Pirineos (Parda de Montaña y Pirenaica). Sin embargo, la respuesta productiva a la intensidad de amamantamiento ha sido menos marcada (Sanz *et al.*, 2003).

El objetivo del presente ensayo fue comparar los resultados productivos del conjunto vaca-ternero en las razas Parda de Montaña y Pirenaica, cuando son sometidas a dos sistemas de manejo del ternero durante el período de estabulación invernal (crianza libre vs. manejo restringido tradicional).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 50 vacas múltiparas, 22 vacas de raza Parda de Montaña y 28 de raza Pirenaica, procedentes del rebaño con parto en invierno (18-febrero \pm 2,6 días) de la Finca Experimental "La Garcipollera" (945 m s.n.m.). Las vacas se sometieron de forma aleatoria a dos intensidades de amamantamiento: acceso libre a la madre (AL) vs. acceso restringido a un amamantamiento diario de 30 minutos a las 08:00 h (AR), desde el día siguiente al parto hasta mediados de junio (115 días post-parto).

Los lotes se equilibraron, dentro de cada raza, por peso vivo (PV) y condición corporal (CC, escala 1-5) al parto (Pardas 549 \pm 12,2 kg, 2,48 \pm 0,03 vs. Pirenaicas 591 \pm 15,5 kg, 2,69 \pm 0,05) y sexo de las crías. Las cubriciones se realizaron por monta natural durante 65 días a partir de mediados de abril (día 50 post-parto), usando un toro de la misma raza para cada tratamiento.

Las vacas recibieron en este periodo 13 kg (Pardas) y 12 kg (Pirenaicas) por animal y día de una mezcla completa comercial (90,3% MS, 8,5% PB, 55,9% FND, 31,6% FAD) con el fin de cubrir el 100% de sus necesidades energéticas teóricas de mantenimiento y producción de leche.

Posteriormente, se trasladaron junto a sus terneros a los pastos de puerto hasta fin de septiembre, cuando éstos fueron destetados (210 días post-parto).

Se registró el PV de vacas y terneros semanalmente durante la estabulación y se calculó la ganancia media diaria (GMD) para cada período por regresión lineal de pesos. Se determinó la producción de leche (PL) de todas las vacas la 3ª semana post-parto, y de 7 vacas por tratamiento en la 7ª y 12ª semanas post-parto, mediante separación de los terneros (09:00 a 15:00 h) y ordeño mecánico tras la administración de 40 UI de oxitocina. Se tomaron muestras individuales de leche para determinar su composición química (Milkoscan 4000, Foss Electric Ltd., UK).

Los datos se analizaron por análisis de varianza con el paquete estadístico SAS. El modelo general incluyó la raza, la intensidad de amamantamiento y la interacción entre ambos como efectos fijos.

Los datos de producción y composición de la leche se analizaron considerando, además, la semana post-parto como efecto fijo y el animal como efecto aleatorio. En los parámetros

productivos de los terneros se incluyó, además, el sexo como efecto fijo. La CC al parto se incluyó inicialmente como covariable en todos los modelos que evaluaron la GMD y la PL de las vacas y se fue eliminando de todos aquellos cuya influencia resultó no significativa ($P>0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución del PV de las vacas, evaluada a través de la GMD para los periodos entre el parto y el comienzo del período de cubriciones y durante el período global de estabulación fue similar en Pardas y Pirenaicas ($P>0,05$), confirmando el equivalente racionamiento ofrecido (Tabla 1). Resultados similares obtuvieron Casasús *et al.* (2005) en vacas del mismo rebaño con parto en otoño y CC al parto similar a la presente (2,54 vs. 2,61, respectivamente).

Sin embargo, las vacas que amamantaron de forma libre perdieron 20 kg de PV (3-4% de su PV al parto) hasta el momento de entrada de toro, mientras que las sometidas a un amamantamiento diario fueron capaces de mantenerlo (GMD -0,385 vs. 0,030 kg, en AL y AR, respectivamente, $P<0,01$). Esta diferencia se mantuvo durante el conjunto del período de estabulación (-0,185 vs. 0,041 kg, $P<0,001$).

La PL bruta y corregida por su contenido energético (3,6% grasa y 3,2% proteína) fue superior en las vacas de raza Parda que en las de raza Pirenaica (8,8 vs. 6,4 kg y 8,7 vs. 6,9 kg, respectivamente, $P<0,01$; Tabla 1). Esta superioridad de PL se tradujo en mayores GMD en los terneros Pardos vs. Pirenaicos durante el período de estabulación (0,783 vs. 0,691 kg, respectivamente), a pesar de haber mostrado PV similares al nacimiento ($P>0,05$; Tabla 2).

El nivel de PL bruta y corregida también se vio afectado por el manejo del ternero, siendo superior en AL que en AR (8,5 vs. 6,7 kg y 8,5 vs. 7,2 kg, respectivamente; $P<0,05$), probablemente debido a que la separación del ternero provoca una disminución de los niveles de prolactina (Wright *et al.*, 1987), que se hubieran mantenido a lo largo de la lactación, y a la mejora del nivel de producción por el aumento de la frecuencia de vaciado de la cisterna mamaria (Elliott, 1959).

La diferencia de PL entre manejos se tradujo en mayores GMD en los terneros de AL frente a AR en el conjunto de la estabulación (0,800 vs. 0,673 kg; $P<0,01$). Este aumento de crecimiento también se observó en terneros de raza Sarda y su cruce con Charolés, sometidos a AL vs. AR entre los días 45 y 90 post-parto (Marongiu *et al.*, 2002).

La cantidad de grasa exportada en la leche fue similar entre razas y manejos ($P>0,05$), no así la cantidad de proteína, que fue superior en Pardas que en Pirenaicas (294 vs. 223 g/d, respectivamente; $P<0,001$) y mayor en AL que en AR (281 vs. 236 g/d, respectivamente; $P<0,05$).

El estado de lactación afectó a la PL ($P<0,05$), que fue superior en la 3ª y 7ª semanas post-parto que en la 12ª (8,2, 7,6 y 7,0 kg/d, respectivamente; $P<0,05$). La PL corregida fue superior en la 3ª semana de lactación que posteriormente (8,7, 7,6 y 7,2 kg/d, respectivamente; $P<0,05$), al igual que la producción de grasa (364, 308 y 289 g/día, respectivamente; $P<0,05$) y proteína (283, 248 y 244 g/día, respectivamente; $P<0,01$).

Durante el pastoreo de puerto, los terneros de ambas razas que habían sido amamantados de forma libre crecieron de forma similar ($P>0,05$), mientras que los Pardos con acceso previo restringido mostraron un crecimiento superior a los Pirenaicos de idéntico manejo ($P<0,05$; Tabla 2). Este ligero crecimiento compensador durante el pastoreo de verano pudo haber sido estimulado por el menor peso de los terneros de acceso restringido en el momento de la subida a puerto (137,9 vs. 110,5 kg en AL vs. AR; $P<0,001$), aunque éste únicamente se demostró en la raza Parda, por lo que cabría atribuir esta mejora a su mayor ingestión de leche durante el pastoreo de puerto (Casasús *et al.*, 1997).

Por su parte, los terneros Pirenaicos de AR no habrían podido compensar la menor ingestión de leche con un mayor consumo de hierba, a pesar de haberse sugerido este mecanismo en terneros de esta raza sometidos a un régimen de dos amamantamientos diarios durante la estabulación invernal (Villalba *et al.*, 2000; Casasús *et al.*, 2002).

Estos resultados indicarían que las vacas de ambos genotipos en situación de crianza libre sufrieron un mayor gasto energético que las de acceso restringido a un amamantamiento diario, derivado de su mayor producción de leche y proteína, que repercutió en una ligera pérdida de peso durante el período de estabulación previo al pastoreo de verano en los puertos de alta montaña. En el conjunto de la lactación, las vacas que amamantaron de forma libre destetaron a un ternero de mayor peso.

Tabla 1. Resultados productivos de las vacas

	Parda de Montaña		Pirenaica		Error estándar	Significación ‡	
	AL	AR	AL	AR		Raza	Manejo
GMD hasta entrada de toro, kg	-0,407	-0,123	-0,363	0,182	0,144	NS	**
GMD en estabulación, kg	-0,197	-0,005	-0,173	0,076	0,050	NS	***
Producción de leche, kg/d	9,6	8,1	7,4	5,4	0,56	***	**
Producción de leche corregida, kg/d	9,0	8,3	7,8	6,0	0,60	**	*
Producción de grasa, g/d	337,9	323,3	338,2	281,0	29,7	NS	NS
Producción de proteína, g/d	308,6	279,5	252,8	192,9	17,8	***	*
Grasa bruta, g/kg	37,2	42,1	43,2	47,1	2,10	*	*
Proteína bruta, g/kg	32,3	35,5	34,0	35,9	1,00	NS	*

‡ Interacción entre raza y manejo no significativa ($P>0,05$).

Tabla 2. Resultados productivos de los terneros

	Parda de Montaña		Pirenaica		Error estándar	Significación	
	AL	AR	AL	AR		Raza	Manejo
PV nacimiento, kg †	40,8	41,8	41,4	38,8	1,69	NS	NS
PV subida a puerto, kg	141,4	114,9	134,4	106,1	6,64	NS	***
PV destete, kg	209,1	187,7	197,3	161,3	8,21	*	***
GMD estabulación, kg	0,852	0,713	0,748	0,633	0,040	*	**
GMD puerto, kg ‡	0,680 ^{bc}	0,726 ^c	0,627 ^{ab}	0,554 ^a	0,029	***	NS
GMD lactación, kg	0,794	0,719	0,705	0,600	0,033	**	**

† El sexo del ternero afectó significativamente ($P<0,05$): 42,6±1,3 kg PV en machos vs. 38,9±1,1 kg PV en hembras.

‡ Interacción raza x manejo significativa ($P<0,05$).

Agradecimientos: Financiación procedente del MEC (INIA RTA 2005-00231), FEDER y Gobierno de Aragón (Grupo Consolidado de Investigación A-11).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casasús, I., Sanz, A., Villalba, D., Ferrer, R., Revilla, R., 1997. *ITEA, Vol. Extra*, 18 (I): 73-75.
- Casasús, I., Ferrer, R., Sanz, A., Villalba, D., Revilla, R., 2000. *Arch. Zoot.*, 49: 445-456.
- Casasús, I., Sanz, A., Villalba, D., Ferrer, R., Revilla, R., 2002. *J. Anim. Sci.*, 80:1638-1651.
- Casasús, I., Blanco, M., Sanz, A., Bernués, A., Revilla, R., 2005. *13th Meeting FAO-CIHEAM Mountain Pastures Sub-Network*, Udine (Italy), 15-17 Sept.
- Elliott, G.M., 1959. *Dairy Sci. Abstr.*, 21. 435-439.
- García, A., Olaizola, A.M., Riedel, J.L., Bernués, A., 2005. *ITEA, Vol. Extra*, 26 (I): 180-182.
- Marongiu, M.L., Molle, G., San Juan, L., Bomboi, G., Ligios, C., Sanna, A., Casu, S., Diskin, M.G., 2002. *Liv. Prod. Sci.*, 77: 339-348.
- Sanz, A., Casasús, I., Villalba, D., Revilla, R., 2003. *Anim. Reprod. Sci.*, 79: 57-69.
- Villalba, D., Casasús, I., Sanz, A., Estany, J., Revilla, R., 2000. *J. Anim. Sci.*, 78: 1132-1140.
- Wright, I.A., Rhind, S.M., Russel, A.J.F., Whyte, T.K., McBean, A.J., McMillen, S.R., 1987. *Anim. Prod.*, 45: 395-402.

SISTEMAS DE MANEJO DEL TERNERO EN REBAÑOS DE VACAS NODRIZAS CON PARTO EN INVIERNO.

2. PERFILES SANGUÍNEOS DE ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS

Álvarez-Rodríguez J., Palacio J., Casasús I., Revilla R., Sanz A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Apdo. 727. 50080 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

En los sistemas de explotación de vacuno en zonas de montaña las decisiones de racionamiento de los animales se limitan, sobre todo, al período de estabulación invernal, que es cuando el ganadero puede intervenir directamente sobre el nivel de alimentación del rebaño. Sin embargo, las vacas con parto en invierno y primavera suelen llegar al parto con un nivel de reservas heterogéneo y habitualmente bajo, especialmente si se ha alargado la estación de pastoreo hasta el fin del otoño y si proceden de genotipos con una distinta pauta de distribución de la energía durante este período, como es el caso de las razas Parda de Montaña y Pirenaica (Casasús et al., 2002).

Los distintos sistemas de amamantamiento del ternero pueden provocar cambios en el nivel de producción de las vacas (Sanz et al., 2007), generando modificaciones en su balance energético. En este sentido, se ha sugerido que la concentración sanguínea de ácidos grasos no esterificados (AGNE) podría ser un buen indicador a corto plazo del estado metabólico de vacas lactantes (Ponter et al., 2000), aunque su concentración depende del estado de reservas del animal en el momento del parto (Sinclair et al., 1998).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar, a partir de los perfiles de AGNE, la respuesta adaptativa de las razas Parda de Montaña y Pirenaica a dos manejos del ternero diferentes (crianza libre vs. manejo restringido tradicional) durante la fase de estabulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 50 vacas multiparas, 22 vacas de raza Parda de Montaña y 28 de raza Pirenaica, procedentes del rebaño con parto en invierno (18-febrero \pm 2,6 días) de la Finca Experimental "La Garcipollera" (945 m s.n.m.). Las vacas se sometieron de forma aleatoria a dos intensidades de amamantamiento: acceso libre a la madre (AL) vs. acceso restringido a un amamantamiento diario de 30 min a las 08:00 h (AR), desde el día siguiente al parto hasta mediados de junio (115 días post-parto).

Los lotes se equilibraron, dentro de cada raza, por peso vivo y condición corporal (CC, escala 1-5) al parto (Pardas 549 \pm 12,2 kg, 2,48 \pm 0,03 vs. Pirenaicas 591 \pm 15,5 kg, 2,69 \pm 0,05) y sexo de las crías. Las cubriciones se realizaron por monta natural durante 65 días a partir de mediados de abril (día 50 post-parto), usando un toro de la misma raza para cada tratamiento. Las vacas recibieron en este período 13 (Pardas) y 12 kg (Pirenaicas) por animal y día de una mezcla completa comercial (90,3% MS, 8,5% PB, 55,9% FND, 31,6% FAD) con el fin de cubrir el 100% de sus necesidades energéticas teóricas de mantenimiento y producción de leche.

Posteriormente, se trasladaron junto a sus terneros a los pastos de puerto hasta fin de septiembre, cuando fueron destetados (210 días post-parto). Durante el otoño las vacas pastaron zonas intermedias de bosque y monte bajo, hasta fin de noviembre (60 días).

Se tomó la CC de las vacas al inicio de las cubriciones, y al comienzo y final de la estación de pastoreo (puerto+monte). Se tomaron muestras de sangre quincenalmente durante el período de estabulación, y el suero obtenido se almacenó (-20 °C) hasta su posterior análisis. La concentración de AGNE en suero se midió por colorimetría enzimática, usando un kit comercial (Randox Laboratories Ltd., Cruilin, Co. Antrim, UK).

Los datos de CC se analizaron considerando la raza, la intensidad de amamantamiento y la semana post-parto como efectos fijos y el animal como efecto aleatorio. Al no poderse verificar la distribución normal de los datos de AGNE (test de Shapiro-Wilk), éstos se analizaron con pruebas no paramétricas (test de Kruskal-Wallis), realizando los contrastes entre razas, manejos y sus interacciones. El patrón temporal de AGNE se analizó comparando los valores de la 1ª semana post-parto con las siguientes. Se realizó un análisis de correlación no paramétrica (Spearman) entre los valores de AGNE y los resultados

productivos de las vacas (Sanz et al., 2007) y se evaluó la capacidad de predicción de la concentración de AGNE en la 1ª semana post-parto sobre la CC al final del período de estabulación, así como la ganancia media diaria (GMD) de peso vivo durante ese período.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cambios de peso vivo debidos al manejo del ternero (Sanz et al., 2007) no se vieron reflejados en cambios en la CC de las vacas de AL vs. AR durante el período de estabulación y la estación de pastoreo siguiente (Tabla 1; $P>0,05$). El menor nivel de reservas al parto de la raza Parda frente a la Pirenaica ($P<0,01$) se mantuvo hasta el inicio del período de cubriciones pero ascendió ligeramente en ambas razas hasta el final del período de estabulación y disminuyó posteriormente durante el pastoreo. En este sentido, se ha descrito que las vacas que paren con una CC moderada movilizan mayor cantidad de agua y proteínas corporales durante la lactación que las de CC alta (Wright y Russel, 1984), por lo que se habría tendido hacia un equilibrio entre ambas razas en el nivel de reservas a lo largo de la estación de pastoreo.

Los niveles sanguíneos medios de AGNE a largo del período de estabulación fueron inferiores en las vacas Pardas de AL que en las Pirenaicas de idéntico manejo ($P<0,001$), mientras que en las vacas con AR los niveles fueron similares en ambas razas ($P>0,05$). Esta interacción entre la raza y el manejo del ternero no se podría atribuir a la diferencia de nivel de reservas inicial en ambas razas, ya que los niveles de AGNE observados en la primera semana de lactación se correlacionaron positivamente con la CC al parto en Pardas ($r=0,47$, $P<0,05$), pero no en Pirenaicas ($P>0,05$). En la misma línea, la producción de grasa y proteína en la leche en la 3ª semana post-parto se correlacionó significativamente con los niveles medios de AGNE en las vacas Pardas ($r=0,56$; $P<0,01$ y $r=0,77$, $P<0,001$, en AL y AR, respectivamente), pero no en las Pirenaicas ($P>0,05$).

Esta diferencia sugeriría una distinta adaptación metabólica durante el establecimiento de la lactación en estas razas, de forma que se acentuaría a corto plazo la acción de las hormonas lipasas y lipoproteín lipasas sobre el tejido adiposo (Griffiths et al., 1994) en la raza Pirenaica sometida a un sistema de crianza libre del ternero, para mantener un nivel de producción superior a las vacas de su misma raza que amamantaron de forma restringida, aunque estos cambios no pudieron detectarse en la medición de la CC de las vacas.

El anterior mecanismo podría estar mediado por la acción de las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina), que son los reguladores más efectivos de la lipólisis (Lafontan, 1994), liberadas por la glándula adrenal en respuesta a la mayor reactividad al manejo demostrada en la raza Pirenaica frente a la Parda de Montaña (Palacio, 2000) y a una posible mayor protección del ternero en AL. Sin embargo, en ensayos anteriores se observaron mayores niveles de AGNE en la raza Pirenaica ($P<0,05$), sin afectar el manejo del ternero (San Juan, 1993).

Otros trabajos han apuntado, en la misma línea que nuestros resultados, que la restricción del acceso del ternero a la madre (días 45-90 post-parto) disminuye los niveles de AGNE en la raza Sarda y su cruce con Charolés, independientemente del genotipo (Marongiu et al., 2002). Por el contrario, Sinclair et al. (1998) observaron mayores concentraciones de estos metabolitos ($P<0,05$) en razas de menor peso vivo al parto (Aberdeen Angus y Welsh Black) frente a las de mayor peso (Charolés y Simmental), lo cual discreparía con la comparación de Parda frente a Pirenaica realizada en el presente trabajo.

La concentración sanguínea de AGNE en la 1ª semana post-parto (AGNE1, mmol/l) no se relacionó con la CC (escala 1-5) de las vacas Pardas al final de la estabulación ($P>0,05$) pero sí con la CC en ese momento en las vacas Pirenaicas de ambos manejos, aunque de forma contraria. Por el contrario, la GMD (en kg) durante el período de estabulación se explicó a partir de los AGNE1 en la raza Parda, pero no en la Pirenaica ($P>0,05$):

CC fin estabulación Pirenaica AL = $3,22(\pm 0,14) - 0,65(\pm 0,15) \times \text{AGNE1}$, $R^2=0,60$ ($P<0,001$)

CC fin estabulación Pirenaica AR = $2,45(\pm 0,12) + 1,19(\pm 0,42) \times \text{AGNE1}$, $R^2=0,44$ ($P<0,05$)

GMD estabulación Pardas = $0,207(\pm 0,072) - 1,295(\pm 0,272) \times \text{AGNE1}$, $R^2=0,57$ ($P<0,001$)

Ecuación lineal $Y=a+bx$, donde Y =variable dependiente, a =intercepto, b =pendiente, x =variable independiente (Entre paréntesis se indica el error estándar de cada término).

La evolución de la concentración de AGNE no se vio afectada por la semana de lactación en las vacas de raza Parda en AL ($P>0,05$; Figura 1). Sin embargo, las vacas de raza Pirenaica sometidas a ese mismo régimen mostraron mayores valores hasta la 9ª semana post-parto que posteriormente (0,541 vs. 0,336 mmol/l; $P<0,05$). Esta diferencia racial no se observó en las vacas que criaron en acceso restringido, ya que mantuvieron los niveles de AGNE constantes ($P>0,05$) durante el período de estabulación.

Por su parte, Sinclair et al. (1998) apuntaron mayores concentraciones plasmáticas de AGNE ($P<0,05$) las 4 primeras semanas post-parto, mientras que Ponter et al. (2000) observaron valores similares en las primeras 10 semanas de lactación ($P>0,05$), si las vacas eran alimentadas al 100% de sus necesidades de mantenimiento y producción.

Se concluye que la concentración sérica de AGNE a lo largo de la lactación no es un buen indicador del estado nutricional de vacas Pardas y Pirenaicas, por lo que otras señales metabólicas relacionadas con el catabolismo energético y proteico deberían ejercer mayor influencia sobre la evolución de sus reservas corporales.

Tabla 1. Condición corporal (escala 1-5)[†] y niveles medios de AGNE durante la estabulación[‡]

	Parda de Montaña		Pirenaica		Error estándar	Significación	
	AL	AR	AL	AR		Raza	Manejo
CC parto	2,48 ^a	2,48 ^a	2,68 ^b	2,70 ^b			
CC inicio cubriciones	2,50 ^a	2,61 ^a	2,73 ^b	2,79 ^b	0,06	**	NS
CC inicio pastoreo	2,54 ^a	2,70 ^a	2,71 ^{ab}	2,74 ^b			
CC final pastoreo	2,47 ^a	2,47 ^a	2,54 ^a	2,58 ^a			
Promedio de AGNE durante la estabulación (mmol/l)	0,308 ^b	0,215 ^a	0,443 ^c	0,224 ^a	0,015	***	***

Distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas ($P<0,05$).

[†] Efecto semana post-parto significativo ($P<0,001$). Interacción entre raza y manejo no significativa ($P>0,05$).

Tendencia estadística en la interacción entre raza y semana post-parto ($P<0,10$).

[‡] Interacción entre raza y manejo significativa ($P<0,001$).

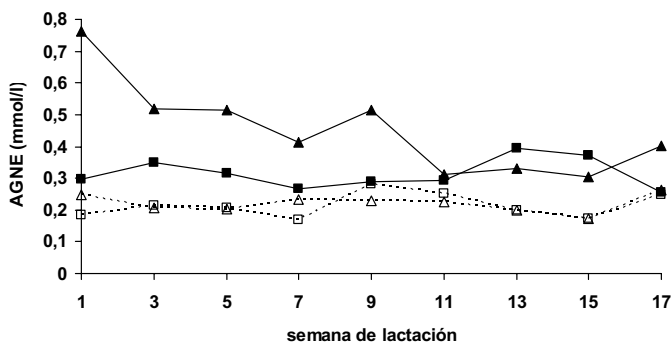


Figura 1. Perfiles de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en vacas de raza Parda (■, □) y Pirenaica (○, ●) con parto en invierno, sometidas a crianza libre del ternero (—) o manejo restringido (---).

Agradecimientos: Financiación procedente del MEC (INIA RTA 2005-00231), FEDER y Gobierno de Aragón (Grupo Consolidado de Investigación A-11).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casasús, I., et al., 2002. *J. Anim. Sci.*, 80:1638-1651.
- Casasús, I., et al., 2005. *13th Meeting FAO-CIHEAM Mountain Pastures Sub-Network*, Udine (Italia), 15-17 Sept.
- Griffiths, A.J., et al., 1994. *Am. J. Clin. Nutr.*, 59: 53-59.
- Lafontan, M., 1994. *Cell. Signal.*, 6: 363-392.
- Marongiu, M.L., et al., 2002. *Liv. Prod. Sci.*, 77: 339-348.
- Palacio, J., 2000. *Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza*. 314 pp.
- Ponter, A.A., et al., 2000. *Anim. Sci.*, 71:243-252.
- San Juan, L., 1993. *Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza*. 282 pp.
- Sanz, A., et al., 2007. *ITEA*, Vol. Extra, 28.
- Sinclair, K.D., et al., 1998. *Anim. Sci.*, 66: 657-666.
- Wright, I.A., Russel, A.J.F., 1984. *Anim. Prod.*, 38: 23-32.

CONSECUENCIAS TÉCNICAS DEL DESTETE PRECOZ DE LOS TERNEROS NACIDOS EN OTOÑO SOBRE LOS RENDIMIENTOS DEL REBAÑO EN SISTEMAS EXTENSIVOS

Casasús I.¹, Blanco M.¹, Sanz A.¹, Bernués A.¹, Revilla R.²

¹CITA-Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza. ²CTA-Aragón Apdo. 617, 50080 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El destete precoz de los terneros en las explotaciones de vacas de cría se ha propuesto como una alternativa interesante para disminuir los costes de producción, así como para un mejor uso de los recursos pastables (Story *et al.*, 2000), en concordancia con los objetivos de extensificación de estos sistemas de producción. A pesar de que esta práctica intensifica el manejo del ternero, permite extensificar el manejo de las madres, ya que las vacas secas pueden aprovechar mejor recursos forrajeros de calidad relativamente baja. En los rebaños con parto en otoño en condiciones de montaña, un destete precoz implicaría adelantar la fecha de salida al pasto a final de invierno, posibilitando el uso de pastos forestales que no serían aptos para vacas con cría (Casasús *et al.*, 2007). A escala anual, algunos autores indican mayores ganancias de peso y mejores rendimientos reproductivos en las vacas destetadas precozmente (Myers *et al.*, 1999a), aunque en otros trabajos no se han observado diferencias (Blanco *et al.*, 2005). El peso y la edad de los terneros al destete pueden influir también en los rendimientos que alcancen posteriormente en el cebo y en las características del producto.

El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos del destete precoz de los terneros nacidos en otoño sobre los rendimientos técnicos del rebaño durante el ciclo productivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la Finca Experimental La Garcipollera (CITA, Gobierno de Aragón), en el Pirineo oscense (945 m de altitud). Se utilizaron 26 vacas múltiparas con parto en otoño (media 19 de octubre) y sus terneros machos, que se distribuyeron tras el parto en cuatro lotes según un diseño de tipo factorial 2x2, con dos razas (Parda de Montaña, PM, vs. Pirenaica, Pi) y dos manejos al destete (precoz, PREC, a los 90 días post parto (dpp) y tradicional, TRAD, a los 150 dpp). Se analizaron los rendimientos durante el periodo de lactación de vacas y terneros, en la posterior estación de pastoreo de las vacas hasta el siguiente parto, y en la fase de cebo intensivo de los terneros.

Durante la lactación las vacas recibieron una dieta unifeed comercial (8.61 MJ EM/kg MS, 12.46% PB) ajustada por raza (12 y 11 kg/d en PM y Pi, respectivamente) en función de su peso y producción lechera esperada. Los terneros se alimentaron sólo con la leche materna, con acceso restringido a dos periodos de amamantamiento diarios de 20 min cada uno. Tras el destete precoz a los 90 dpp (media 19 de enero), las vacas PREC pastaron en áreas boscosas con una suplementación de 7.6 kg/d de unifeed durante los primeros 35 d de pastoreo (hasta 23 de febrero, 125 dpp). Las vacas TRAD se mantuvieron en lactación en establo hasta los 150 dpp (media 15 de marzo). Posteriormente, las vacas de ambos lotes pastaron en las áreas forestales sin suplementación durante toda la primavera y en pastos de puerto durante el verano, hasta la estabulación (20 de septiembre, 340 dpp) antes del siguiente parto. Tras el destete, todos los terneros se cebaron de forma intensiva con pienso (de crecimiento y acabado) y paja a libertad, hasta alcanzar los 450 kg de peso vivo, momento en que se sacrificaron en un matadero comercial.

Las vacas y los terneros se pesaron semanalmente desde el parto hasta 150 dpp. Las vacas se pesaron de nuevo al final del periodo de pastoreo (340 dpp), realizándose una corrección por el peso del útero grávido. La ganancia media diaria (GMD) se calculó por regresión lineal del peso sobre la fecha. Se anotó la condición corporal (CC) de las vacas al parto y a los 90, 150 y 340 dpp. La producción lechera de las vacas se determinó mediante ordeño mecánico con inyección de oxitocina a los 90 y 150 dpp. El consumo de alimentos de las vacas se registró diariamente por lote. Para determinar la duración del periodo de anestro postparto se tomaron dos muestras semanales de sangre desde el parto hasta 150 dpp, en las que se analizaron las concentraciones plasmáticas de progesterona mediante RIA (kit comercial Coat-A-Count Progesterone, DPC®).

Durante la fase de cebo intensivo, los terneros se pesaron semanalmente, y su consumo de pienso se registró diariamente de forma individual mediante el sistema de gestión computerizado ALPRO® (Alfa Laval Agri, Tumba, Suecia). Al sacrificio se registraron el peso y estado de conformación (escala S-EUROP) y engrasamiento (escala de 1⁻ a 5⁺) de las canales (R. CEE nº 2930), que se transformaron a una escala 1-15 para su análisis.

Se realizaron análisis de varianza (proc GLM) considerando la raza, el tipo de destete y la interacción entre ambos como efectos fijos para evaluar su influencia sobre los rendimientos del rebaño. Los caracteres con medidas repetidas se analizaron mediante un modelo mixto con medidas repetidas, en el que la raza, el tipo de destete, la repetición y su interacción fueron los efectos fijos, y el animal el efecto aleatorio. Se presentan las medias mínimo cuadráticas y error estándar de la diferencia (e.e.d., en los modelos lineales generalizados) o desviación estándar residual (d.e.r., en los modelos mixtos).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las vacas de raza Pi presentaron mayor peso y CC en el momento del parto (573 vs. 628 kg en PM y Pi, respectivamente, d.e.r. 16, $P < 0.001$; y 2.54 vs. 2.61 puntos de CC, d.e.r. 0.03, $P < 0.05$), diferencia que se mantuvo durante todo el ensayo. No se observaron diferencias entre razas en las ganancias de las vacas hasta los 150 dpp, aunque la recuperación de peso posterior (150-340 dpp) fue superior en las vacas de raza PM (Tabla 1), lo que se debería a una compensación de su menor estado de reservas al inicio del pastoreo (2.5 vs. 2.6 puntos a 150 dpp en PM y Pi, respectivamente, d.e.r. 0.03, $P < 0.01$) (Casasús *et al.*, 2002). La producción de leche tendió a ser superior en las vacas de raza PM a los 90 dpp (7.8 vs. 6.2 kg/d, d.e.r. 1.4, $P = 0.08$) y a los 150 dpp (6.9 vs. 5.6 kg/d, NS), si bien en otros estudios las vacas PM han mostrado una producción lechera claramente mayor que las Pi (Sanz *et al.*, 2003). No hubo diferencias significativas entre razas en la duración del anestro postparto (61.8 vs. 43.9 d en PM y Pi, respectivamente, e.e.d. 15.51, NS), como indicaran Sanz *et al.* (2004) en condiciones de acceso restringido del ternero.

El manejo al destete influyó significativamente en los rendimientos de las vacas sólo en la fase de manejo diferencial (90-150 dpp), en la que las vacas TRAD mantuvieron su peso en estabulación mientras que las vacas PREC, a pesar de la suplementación, perdieron peso durante el pastoreo invernal. En el resto de la estación de pastoreo no se observaron diferencias asociadas al manejo al destete, que no afectó al peso ni a la CC registrados en el momento de la estabulación, a los 340 dpp (575 vs. 583 kg en TRAD y PREC, respectivamente, d.e.r. 16, NS; y 2.54 vs. 2.57 puntos de CC, d.e.r. 0.03, NS).

La duración del anestro postparto tampoco se vio influida por el manejo al destete (50.9 vs. 54.84 días en TRAD y PREC, e.e.d. 15.51, NS). Esto se debió a que la reactivación en estas razas ocurre en torno a los 40-50 dpp (Sanz *et al.*, 2004), por lo que el destete a los 90 dpp difícilmente puede afectar a la reactivación. De hecho, sólo 4 vacas (15%) reiniciaron la ciclicidad después de los 90 dpp, independientemente del momento de destete.

Tabla 1. Rendimientos de las vacas durante el ciclo anual (estabulación y pastoreo).

	Raza		Destete		d.e.r.	R	D	R X D
	PM	Pi	TRAD	PREC				
n	14	12	14	12				
GMD, kg 0-90 dpp	-0.265	-0.216	-0.244	-0.236	0.256	NS	NS	NS
90-150 dpp	-0.086	-0.102	0.097	-0.285		NS	**	NS
150-340 dpp	0.172	-0.010	0.095	0.067		NS	NS	NS

En cuanto a los rendimientos de los terneros (Tabla 2), las ganancias de peso tendieron a ser superiores en la raza PM durante los tres primeros meses de vida, reflejando lo observado en la producción lechera de las madres, y fueron algo mayores (NS) hasta los 150 dpp. Estas diferencias repercutieron en un mayor peso de los terneros PM a los 90 y 150 dpp ($P < 0.05$). El crecimiento en cebo fue similar en ambas razas, que alcanzaron el mismo peso objetivo al sacrificio a la misma edad. Al sacrificio, las canales de raza Pi presentaron mayor peso y conformación, lo que se relacionaría con su rendimiento carnívero

algo superior, descrito por Albertí *et al.* (2005).

El manejo al destete afectó a las ganancias durante la fase de manejo diferencial (90-150 dpp), ya que los terneros PREC en cebo tuvieron mayor GMD en este periodo que los terneros TRAD todavía en lactación. Las ganancias en cebo desde 150 dpp al sacrificio fueron similares, con similar ingestión diaria de pienso (5.7 vs. 5.8 kg MS/d en TRAD y PREC, respectivamente, e.e.d. 0.4, NS) y análogos índices de conversión (0.28 y 0.29 kg ganancia/kg MS pienso en TRAD y PREC, respectivamente, e.e.d. 0.02, NS). Como los terneros PREC iniciaron la fase de cebo más ligeros necesitaron un periodo de tiempo más largo para alcanzar el mismo peso al sacrificio, y tuvieron un mayor consumo total de pienso (970 vs. 1130 kg MS, e.e.d. 46.5, $P < 0.01$). Las canales de ambos lotes tuvieron similar peso y estado de engrasamiento, como observaron otros autores (Myers *et al.*, 1999b; Story *et al.*, 2000; Arthington *et al.*, 2005). Sin embargo, la conformación fue superior en el lote PREC, como indicaron Meyer *et al.* (2005), principalmente en los terneros PM (9.5 vs. 10.8 puntos en TRAD y PREC, respectivamente, e.e.d. 0.13, $P < 0.05$), ya que en los Pi la diferencia no llegó a ser significativa (10.9 vs. 11.4 puntos en TRAD y PREC, respectivamente, e.e.d. 0.13, NS).

Tabla 2. Rendimientos de los terneros durante el ciclo productivo (lactación y cebo).

	Raza		Destete		<i>d.e.r.</i>	<i>e.e.d.</i>	R	D	R X D
	PM	Pi	TRAD	PREC					
Peso, kg 0 dpp	46	42	44	44	15		NS	NS	NS
90 dpp	127	109	124	112			*	NS	NS
150 dpp	192	162	172	184			*	NS	NS
sacrificio	446	449	448	447			NS	NS	NS
GMD, kg 0-90 dpp	0.901	0.758	0.890	0.769	0.158		0.06	NS	NS
90-150 dpp	1.045	0.932	0.726	1.252			NS	***	NS
150 dpp-sacr.	1.647	1.663	1.681	1.628			NS	NS	NS
Duración del cebo, d	189	202	174	217		10.2	NS	***	NS
Edad al sacrificio, d	309	322	324	307		10.0	NS	NS	NS
Peso canal, kg	252	261	255	258		4.7	0.05	NS	NS
Rendimiento canal, %	56.4	58.2	56.9	57.6		0.7	*	NS	NS
Conformación (1-15)	10.2	11.1	10.2	11.1		0.43	*	*	NS
Engrasamiento (1-15)	5.4	5.0	5.0	5.4		0.26	NS	NS	NS

CONCLUSIONES

En estas condiciones, el destete precoz de los terneros nacidos en otoño no afectó a los rendimientos productivos y reproductivos de las vacas, mientras que su diferente pauta de crecimiento condicionó la duración de la fase de cebo, independientemente de la raza. Sin embargo, la práctica del destete precoz permite adelantar el inicio de la estación de pastoreo de las vacas y aprovechar de forma eficiente pastos de baja calidad cuyo uso por el ganado tiene un notable interés medioambiental.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Albertí *et al.* (2005). *Meat Sci.* 71: 514-521.
- Blanco *et al.* (2005). *I.T.E.A.* 26 (I): 213-215.
- Casasús *et al.* (2002). *J. Anim. Sci.* 80: 1638-1651.
- Casasús *et al.* (2007). *Agric. Ecosyst. Environ.* 121: 365-370.
- Meyer *et al.* (2005). *J. Anim. Sci.* 83: 2752-2761.
- Myers *et al.* (1999a). *J. Anim. Sci.* 77: 300-310
- Myers *et al.* (1999b). *J. Anim. Sci.* 77: 323-329.
- Sanz *et al.* (2003). *Anim. Reprod. Sci.* 79: 57-69.
- Sanz *et al.* (2004). *Livest. Prod. Sci.* 86: 179-191.
- Story *et al.* (2000). *J. Anim. Sci.* 78: 1403-1413.

Agradecimientos: Al personal laboral de la finca La Garcipollera, y a Mercazaragoza y BIMARCA S.A., por su colaboración técnica. Financiación procedente de MEC (AGL 2002-00027, INIA RTA2005-00234-C02, INIA RTA2005-231), FEDER y Gobierno de Aragón (Grupo Consolidado de Investigación A-11).

CONSECUENCIAS ECONÓMICAS DEL DESTETE PRECOZ DE LOS TERNEROS NACIDOS EN OTOÑO PARA DISTINTOS TIPOS DE EXPLOTACIONES DE VACUNO

Casasús I.¹, Blanco M.¹, Sanz A.¹, Bernués A.¹, Revilla R.²

¹CITA-Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza. ²CTA-Aragón Apdo. 617, 50080 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El éxito de los sistemas ganaderos extensivos pasa por garantizar aspectos como la sostenibilidad ambiental, la calidad de los productos, y, obviamente, la eficiencia económica de la producción. Combinando estos objetivos, el uso de los recursos forrajeros en las explotaciones de vacuno de cría puede optimizarse ajustando tanto la época de parto como el momento del destete de los terneros a la disponibilidad de dichos recursos. El destete precoz permite reducir los costes de alimentación del rebaño en establo y facilita un óptimo aprovechamiento del pasto (Story *et al.*, 2000), aunque los resultados económicos dependen del valor de los insumos y productos considerados, que pueden variar entre diferentes sistemas e incluso a lo largo del año en un mismo sistema. En este sentido, en un rebaño de vacas de cría con parto en primavera en condiciones de montaña, Blanco *et al.* (2005) no hallaron ventajas económicas de practicar un destete precoz frente a un destete tradicional de los terneros tras el pastoreo de verano en puerto, si bien las circunstancias podrían cambiar en un rebaño con partos en otoño.

El destete precoz podría tener distintas implicaciones en función del tipo de explotación considerado, ya sean de vacas de cría, cebaderos o explotaciones de vacas nodrizas que ceban los terneros en lugar de venderlos al destete, siendo este último caso frecuente en el Pirineo (García-Martínez, 2007). En este contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del destete precoz de los terneros en vacas con parto en otoño sobre los rendimientos económicos de tres tipos de explotaciones de vacuno de carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la Finca Experimental La Garcipollera, en el Pirineo oscense. Se utilizaron 26 vacas multiparas con parto en otoño (media 19 de octubre) y sus terneros machos, que se distribuyeron tras el parto en cuatro lotes según un diseño de tipo factorial 2x2, con dos razas (Parda de Montaña, PM, vs. Pirenaica, Pi) y dos manejos al destete (precoz, PREC, a los 90 días post parto (dpp) y tradicional, TRAD, a los 150 dpp).

Durante la lactación las vacas recibieron una dieta unifeed comercial ajustada por raza (12 y 11 kg/d en PM y Pi, respectivamente) en función de su peso y producción lechera esperada, mientras que los terneros se alimentaron sólo con la leche materna. Tras el destete precoz a los 90 dpp (media 19 de enero), las vacas PREC pastaron en áreas boscosas con una suplementación de 7.6 kg/d de unifeed durante los primeros 35 d de pastoreo (hasta 23 de febrero). Las vacas TRAD se mantuvieron en lactación en establo hasta los 150 dpp (media 15 de marzo). Posteriormente, las vacas de ambos lotes pastaron en las áreas forestales sin suplementación durante la primavera y en pastos de puerto durante el verano, hasta la estabulación previa al siguiente parto (20 de septiembre). Tras el destete, los terneros se cebaron de forma intensiva con pienso (de crecimiento y acabado) y paja a libertad, hasta alcanzar los 450 kg de peso vivo, momento en que se sacrificaron.

Los consumos de alimentos se registraron diariamente en lote para las vacas e individualmente en el caso de los terneros. Al sacrificio se registraron el peso y estado de conformación de las canales. Los rendimientos durante todo el ciclo productivo (lactación de vacas y terneros, época de pastoreo de las vacas hasta el siguiente parto, y cebo intensivo de los terneros) se presentan en Casasús *et al.* (2007).

Para el estudio del interés económico ligado a la raza y el manejo al destete se calculó la diferencia entre los ingresos y los costes variables de alimentación y estabulación en tres tipos de explotaciones: las de vacuno de cría que producen terneros destetados, los cebaderos que compran terneros destetados y los ceban hasta el sacrificio, y las explotaciones de ciclo completo, que crían y ceban los terneros. El margen económico se obtuvo considerando sólo los ingresos y costes que variaban entre estrategias: los costes reales de alimentación de la vaca (unifeed) y el ternero (pienso), los costes fijos por uso de

instalaciones en la granja de cría y en el cebadero (por día de estancia), los ingresos por venta de terneros al destete (según su peso, a partir de precios facilitados por cooperativas de referencia) y los ingresos por venta de terneros cebados (según precio establecido por la Lonja Agropecuaria del Ebro, en función del peso y conformación de sus canales).

Los costes, ingresos y márgenes económicos para los tres tipos de explotaciones consideradas se analizaron mediante análisis de varianza (proc GLM) considerando la raza, el tipo de destete y la interacción entre ambos como efectos fijos. Los resultados se presentan como medias mínimo cuadráticas y error estándar de la diferencia (e.e.d).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los costes, ingresos y resultados económicos para los tres tipos de explotaciones de vacuno de carne consideradas, en función de la raza y la edad de los terneros al destete, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Costes de producción, ingresos por venta de los terneros y margen económico para tres estrategias productivas.

	Raza		Destete		e.e.d.	R	D	R x D
	PM	Pi	TRAD	PREC				
Costes alimentación, €								
vaca (A)	247	240	268	218	7.4	NS	***	NS
ternero (B)	240	247	224	263	10.8	NS	**	NS
Costes estabulación, €								
vaca (C)	26	26	31	21	0.6	NS	***	NS
ternero (D)	40	42	36	46	2.1	NS	***	NS
Ingresos ternero, €								
destete (E)	541	524	554	512	6.7	*	***	NS
sacrificio (F)	789	839	802	825	16.9	**	NS	NS
Margen económico, €								
rebaño de cría ¹	268	258	255	273	8.7	NS	*	NS
cebadero ²	-32	26	-12	4	18.7	**	NS	0.05
ciclo completo ³	236	284	243	277	21.6	*	NS	0.09

¹ $E - A - C$

² $F - E - B - D$

³ $F - A - B - C - D$

La raza no afectó al margen económico logrado por los rebaños de cría, ya que los costes de alimentación y estabulación fueron similares, mientras que la diferencia entre los ingresos percibidos por la venta de los terneros de ambas razas al destete fue pequeña. Sin embargo, el mayor ingreso obtenido de las canales de raza Pirenaica, por su mejor rendimiento canal y conformación (Casasús *et al.*, 2007), con un coste similar en lactación y cebo, hizo que los beneficios logrados con esta raza fueran superiores tanto para los cebaderos como para las explotaciones de ciclo completo.

En cuanto al manejo al destete, el destete tradicional implicó mayores costes de alimentación y estabulación de las vacas para los rebaños de cría, que no se compensaron totalmente por el mayor precio de venta de sus terneros al destete. Por ello, el manejo PREC supuso un mayor margen económico para estas explotaciones, como indicaron Peterson *et al.* (1987). Así, una vez que el ternero tiene una edad suficiente puede ser transferido al cebadero de destino, ya que el coste de producción asociado a aumentar su peso mientras sigue lactante junto a la madre es mayor que los beneficios obtenidos por un ternero más pesado al destete, de manera que no resulta rentable prolongar la lactación. Además, el aprovechamiento temprano de los pastos forestales permitido por el manejo PREC lo convierte en una práctica interesante de cara a la correcta gestión medioambiental de estas zonas.

En los cebaderos, los terneros destetados precozmente tuvieron menor precio inicial pero mayores costes de alimentación y estabulación, por una mayor duración del periodo de cebo, resultando el margen económico similar para ambos manejos al destete. Sin embargo, en el caso de los terneros PM las diferencias entre manejos fueron más acusadas, ya que los terneros TRAD tuvieron un mayor precio inicial (565 vs. 519 € los lotes TRAD y PREC, respectivamente, $P < 0.001$) pero, a pesar de generar menores gastos de alimentación y estabulación en cebo, produjeron menores ingresos (763 vs. 815 €, $P < 0.05$), por un rendimiento canal algo inferior (55.5 vs. 57.3%, $P = 0.06$) y una peor conformación.

En las explotaciones de ciclo completo el margen económico se vio menos afectado por el manejo al destete, aunque se observó una tendencia a la interacción entre la raza y el manejo ($P = 0.09$). El margen en la raza Pi fue similar independientemente del manejo (284 vs. 282 € en los lotes TRAD y PREC, respectivamente, NS), pero en la raza PM se obtuvo un mayor margen cuando los terneros se destetaron precozmente (200 vs. 274 € en TRAD y PREC, respectivamente, $P < 0.05$). Esto se debió a la combinación del menor coste de alimentación de las vacas con un rendimiento canal algo superior, mejor conformación y, por tanto, mayor precio de venta de los terneros destetados precozmente. Otros autores (Story *et al.*, 2000) no hallaron diferencias en los rendimientos económicos de las explotaciones de ciclo completo asociadas al destete, indicando que el cambio de edad al destete sólo influye al momento en el que se incurre en los mayores costes (lactación vs. cebo), pero no en el resultado final.

La comparación de los márgenes económicos obtenidos por los distintos tipos de explotaciones indica que, en las condiciones descritas y sin contabilizar las subvenciones, las explotaciones de vacas de cría no obtienen un beneficio adicional por cerrar el ciclo productivo de los terneros, incorporando el cebo a su explotación. Los márgenes obtenidos por las explotaciones de cría y de ciclo completo son similares entre sí, independientemente de la edad de los terneros al destete. De hecho, sólo en la raza Pirenaica es mayor el margen en ciclo completo que en rebaño de cría, mientras que en las explotaciones de raza Parda de Montaña el margen es menor si se ceba al ternero que si se vende al destete, ya que por su menor rendimiento carnicero se obtiene un precio proporcionalmente superior por los terneros destetados que una vez cebados. Con esto, en ausencia de un posible sobrepeso del producto final asociado a una marca de calidad, cebar los terneros resultaría de escaso interés para las explotaciones de cría, ya que además implica unas inversiones en instalaciones e inmovilización del capital animal por un tiempo más prolongado, con los riesgos que puede conllevar. Como se desprende de los resultados presentados, los márgenes obtenidos en el cebo son reducidos o incluso negativos, circunstancia que deberá ser tenida en cuenta por las empresas ganaderas, especialmente a partir de la aplicación del desacoplamiento parcial de las ayudas al cebo de terneros.

CONCLUSIONES

En estas condiciones, la relación entre los costes de producción y los ingresos por venta de los terneros reveló un mayor margen para las explotaciones de cría que practican el destete precoz. Para los cebaderos y explotaciones de ciclo completo la edad de los terneros al destete resultó indiferente, mientras que obtuvieron mayores beneficios con los animales de raza Pirenaica por su mejor rendimiento carnicero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco *et al.* (2005). I.T.E.A. 26 (I): 213-215.
- Casasús *et al.* (2007). XII Jornadas sobre Producción Animal AIDA.
- García-Martínez (2007). Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Peterson *et al.* (1987). J. Anim. Sci. 64: 15-22.
- Story *et al.* (2000). J. Anim. Sci. 78: 1403-1413.

Agradecimientos: Al personal laboral de la finca La Garcipollera, y a Mercazaragoza y BIMARCA S.A., por su colaboración técnica. Financiación procedente de MEC (AGL 2002-00027, INIA RTA2005-00234-C02, INIA RTA2005-231), FEDER y Gobierno de Aragón (Grupo Consolidado de Investigación A-11).

EFFECTO DE LA EDAD AL PRIMER PARTO SOBRE CARACTERES PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS EN LA RAZA *BRUNA DELS PIRINEUS*

Fina, M., Casellas, J., Piedrafita, J.

Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona),

INTRODUCCIÓN

El conocimiento del comportamiento reproductivo del vacuno de carne es importante para el desarrollo y mejora de este ganado, ya que tanto la eficiencia reproductiva como la tasa de crecimiento de los terneros resultan ser determinantes de su productividad (Rico *et al.*, 1992). En este contexto, la edad al primer parto es un carácter de gran importancia económica al determinar el comienzo de la vida productiva de cada novilla.

La *Bruna dels Pirineus* es una raza vacuna de carne explotada básicamente en un sistema valle-puerto en los Pirineos catalanes, siendo el ternero destetado el producto comercial más valioso. Por este motivo, históricamente el peso al destete y la ganancia media hasta el destete eran considerados los componentes más importantes para los programas de mejora. No obstante, los caracteres reproductivos están cobrando importancia creciente como objetivos de mejora, siendo la edad al primer parto un carácter determinante en el historial reproductivo de una hembra (Michaux *et al.*, 1987), pues presenta en algunas poblaciones una correlación favorable con caracteres de crecimiento en el vacuno de carne (Bourdon y Brinks, 1982; Phocas *et al.*, 1998). Para Goyache *et al.* (1994) las edades tempranas al primer parto pueden ser perjudiciales para el desarrollo posterior de la hembra, aunque otros autores (Nilforooshan y Edriss, 2004) observaron que edades al primer parto tardías, superiores a 30 meses, provocaban una reducción de la vida productiva en vacas lecheras. En este contexto, este estudio pretende analizar el efecto de la edad al primer parto sobre caracteres productivos (peso al nacimiento y al destete de los terneros) y reproductivos (facilidad de parto e intervalo entre partos de las vacas) en la raza *Bruna dels Pirineus*, con el objetivo de determinar los efectos potenciales que tendría la reducción de la edad al primer parto sobre la productividad de la raza.

MATERIAL Y MÉTODOS

La *Bruna dels Pirineus* es una raza vacuna de carne cuya área de distribución son los Pirineos y zonas prepirenaicas de Cataluña. Inicialmente tenía una triple aptitud (carne, leche y trabajo) y más tarde se seleccionó para la producción de carne. Esta raza está adaptada al sistema de producción extensivo, pasando los veranos en los pastos de las montañas, y alimentándose de silo y/o heno durante el resto del año en los valles y zonas bajas.

El análisis se realizó sobre 7.377 datos de peso al nacimiento (PN), 3.075 de peso al destete (PD), 7.149 de facilidad de parto (FP) y 4.914 datos de intervalo entre partos (IP) (se eliminaron los intervalos entre partos mayores de 500 días), registrados entre los años 1985 y 2006 en 19 explotaciones inscritas en el *Programa de Control de Rendiments i Millora* de la raza. El PD se estandarizó a 185 días (edad promedio de destete de la raza) y la FP se categorizó según: 1- parto sin dificultad y sin asistencia, 2- parto asistido sin dificultad, 3- parto asistido con dificultades, 4- parto con asistencia veterinaria, y 5- parto con cesárea. Los modelos de análisis contrastaron el efecto de la edad de la madre al primer parto (EPP), dividida dicha edad en 4 intervalos: <800 días (EPP1), 800-1003 días (EPP2), 1004-1338 días (EPP3) y 1339-1703 días (EPP4). Dichos modelos incluyeron también como efectos fijos la edad de la madre en el parto que genera el dato (EM) clasificada en 7 categorías, el año de parto (A) y el sexo del ternero (S), y la madre (V) como efecto aleatorio. El modelo para FP incluyó también el peso al nacimiento como covariable. Los efectos fijos que no alcanzaron la significación estadística fueron excluidos del modelo final. Tras la eliminación de los factores que no mostraron significación estadística, los modelos operativos fueron:

$$Y_{ijkmno} = EM_i + EPP_j + A_k + S_m + V_n + e_{ijkmno}$$

$$FP_{ijkmnop} = EM_i + EPP_j + A_k + S_m + PN_n + V_o + e_{ijkmnop}$$

siendo Y_{ijkmno} el registro fenotípico correspondiente a PN, PD o IP.

La estructura de covarianzas de simetría compuesta resultó ser la más indicada según el criterio de información de *Akaike*. Los datos fueron analizados con el procedimiento MIXED de SAS (SAS, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mejora genética en vacuno de carne está generalmente enfocada a caracteres productivos como el peso al destete de los terneros. Sin embargo, las características reproductivas, como la edad al primer parto, afectan de forma importante la productividad del ganado (Tonhati *et al.*, 2000). La edad al primer parto presenta la heredabilidad más elevada de todos los caracteres reproductivos, a la vez que muestra una correlación favorable con caracteres de crecimiento en vacuno de carne de las razas *Angus* y *Hereford* (Bourdon y Brinks, 1982). Por otra parte, la edad al primer parto puede estar influida por la raza, el sistema de manejo, la ganadería, la época de nacimiento o la alimentación, entre otros (Tapia *et al.*, 1995).

En la población estudiada, la raza *Bruna dels Pirineus*, los promedios de peso al nacimiento y de peso al destete de los terneros de fueron de $45,11 \pm 0,08$ kg y $230,06 \pm 0,52$ kg respectivamente. La facilidad de parto promedio fue de $1,30 \pm 0,01$ y el intervalo medio entre partos resultó ser $374,23 \pm 0,54$ días. La muestra estudiada (1.851 vacas) presentó una edad media al primer parto de 38 meses, siendo este valor semejante a los publicados en la raza Retinta –también explotada en extensivo– (Tapia *et al.* 1995), y otras razas de carne sudamericanas (Suárez *et al.*, 2006), pero inferiores a razas europeas como la *Charolais*, la *Limousine* y la *Hereford* (35, 34,5 y 35 meses, respectivamente; Dákay *et al.*, 2006).

Las vacas que parieron por primera vez más jóvenes dieron terneros en promedio 1 kg más pesados al nacimiento ($P < 0,05$) a lo largo de su carrera productiva, sin que ello afectara a la facilidad de parto y al intervalo entre partos, ni tampoco al peso al destete (Tabla 1). Estos resultados difieren de los publicados en un estudio en las razas *Angus*, *Hereford*, *Shorthorn* y en animales cruzados, donde se observó una reducción del peso al destete de los terneros procedentes de las vacas que dieron un primer parto a edades más tempranas, mientras que éste hecho no afectaba al peso al nacimiento (Núñez-Domínguez *et al.*, 1991). En el mismo sentido que nuestros resultados, Smith *et al.* (1976) y Werre y Brinks (1986) sugirieron la existencia de una correlación genética negativa entre la edad a la pubertad (variable estrechamente relacionada con la edad al primer parto) y el peso al nacimiento, aunque estudios posteriores de Smith *et al.* (1989) condecían este resultado.

La edad al primer parto incluye el periodo que una novilla necesita para llegar a la madurez reproductiva y parir por primera vez. La duración de ese periodo tiene un efecto económico substancial sobre la productividad del vacuno de carne (Martin *et al.*, 1992), dado que es un indicador tanto del éxito reproductivo como de los costes de reposición. Debemos tener en cuenta que la edad al primer parto está muy influida por las prácticas de manejo de cada rebaño (VanRaden y Klaaskate, 1993), lo cual nos aporta un grado sustancial de flexibilidad a la hora de influir sobre la misma si fuera necesario. Reducir la edad al primer parto puede ser una estrategia efectiva en algunas razas vacunas para reducir los costes económicos sin influir sobre caracteres productivos básicos como PD, IP y FP, tal como se ha observado en la *Bruna dels Pirineus*. No obstante, antes de recomendar la cubrición temprana de las vacas, se debería estudiar el efecto de esta práctica sobre otros caracteres, como por ejemplo la longevidad, íntimamente relacionada con el proceso de reforma de las vacas y por lo tanto con los costes de reposición del rebaño. A este respecto Núñez-Domínguez *et al.* (1991) y Martínez *et al.* (1983) han observado el efecto negativo de la reducción de la edad al primer parto sobre la longevidad de las vacas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bourdon, R.M., Brinks, J.S. 1982. Genetic, environmental and phenotypic relationships among gestation length, birth weight, growth traits and age at first calving in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 55, 543-553.
- Goyache, F., Gutiérrez, J.P., Alonso, L., Cañón, J., Villa, A., Dunner, S. 1994. La edad al primer parto en la Raza Asturiana de los Valles. *FEAGAS*, Oct. Dic. 26.
- Martin, L.C., Brinks, J.S., Bourdon, R.M., Cundiff, L.V. 1992. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal of Animal Science*, 70, 4006-4017.
- Martínez, M.L., Freeman, A.E., Berger, P.J. 1983. Genetic

relationship between calf livability and calving difficulty of Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 66, 1494-1502. • Michaux, C., Detal, G., Hanset, R. 1987. Age aux vêlages, intervalles de vêlages et taux de renouvellements à l'intérieur de troupeaux Blanc-Bleu Belge de type viandeux. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 131, 553-570. • Nilforooshan, M.A., Edriss, M.A. 2004. Effect of age at first calving on some productive and longevity traits in Iranian Holsteins of the Isfahan province. *Journal of Dairy Science*, 87, 2130-2135. • Núñez-Dominguez, R., Cundiff, L.V., Dickerson, K.E., Koch, R.M. 1991. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years of age. *Journal of Animal Science*, 69, 3467-3479. • Rico, C., Planas, T. 1992. Parámetros genéticos del comportamiento reproductivo en ganado Cebú. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 24, 35-41. • Phocas, F., Bloch, C., Chapelle, P., Bécherel, F., Renand, G., Menissier, F. 1998. Developing a breeding objective for a French purebred beef cattle selection programme. *Livestock Production Science*, 57, 49-65. • Dákay, I., Márton, D., Keller, K., Fördös, A., Török, M., Szabó, F. 2003. Study on the age at first calving and the longevity of beef cows. *Journal Central European Agriculture*, 7, 377-388. • SAS®, 2001. *User's Guide, Statistics*, version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC. • Smith, B.A., Brinks, J.S., Richardson, G.V. 1989. Estimation of genetic parameters among reproductive and growth traits in yearling heifers. *Journal of Animal Science*, 67, 2886-2891. • Smith, G.M., Fitzhugh, Jr. H.A., Cundiff, L.V., Cartwright, T.C., Gregory, K.E. 1976. A genetic analysis of maturing patterns in straightbred and crossbred Hereford, Angus and Shorthorn cattle. *Journal of Animal Science*, 43, 389-395. • Suárez, M., Ossa, G., Pérea, J. 2006. Factores ambientales y genéticos que influyen sobre la edad al primer parto en hembras de la raza Romosinuano. *Revista MVZ Córdoba*, 11, 738-743. • Tapia, N., Muñoz, P., Molina, A. 1995. Factores que afectan a la edad al primer parto en el ganado vacuno de raza Retinta. *Archivos de Zootecnia*, 44, 215-223. • Tonhati, H., Vascellos, F.B., Albuquerque, L.G. 2000. Genetic aspects of productive and reproductive traits in a Murrah buffalo herd in Sao Paulo, Brazil. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 117, 331-339. • VanRaden, P.M., Klaaskate, E.J.H. 1993. Genetic evaluation of length of productive life including predicted longevity of live cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 2758-2764. • Werre, J.F., Brinks, J.S. 1986. Relationships of age at puberty with growth and subsequent productivity in beef heifers. *Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science*, 37, 300.

Tabla 1: Media y errores estándar del peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), facilidad de parto (FP) e intervalo entre partos (IP) según la edad de la madre al primer parto.

	% partos	PN (kg)		PD (kg)	
		N	Media ± e.e.	N	Media ± e.e.
EPP1	6,89	508	46,14 ^a ± 0,3	119	224,43 ^{a,b} ± 2,8
EPP2	17,37	1281	45,36 ^b ± 0,2	550	228,77 ^{a,b} ± 1,6
EPP3	64,68	4769	45,05 ^b ± 0,1	2230	224,83 ^b ± 0,9
EPP4	11,06	816	44,50 ^c ± 0,3	175	228,05 ^{a,b} ± 2,3
	% partos	FP		IP (días)	
		N	Media ± e.e.	N	Media ± e.e.
EPP1	6,89	505	1,31 ^a ± 0,0	505	224,43 ^{a,b} ± 2,8
EPP2	17,37	1269	1,32 ^a ± 0,0	1269	228,77 ^{a,b} ± 1,6
EPP3	64,68	4570	1,35 ^a ± 0,0	4570	224,83 ^b ± 0,9
EPP4	11,06	803	1,35 ^a ± 0,0	803	228,05 ^{a,b} ± 2,3

Los valores medios que presentan el mismo superíndice no difieren significativamente.

OBJETIVOS Y OPINIONES DE LOS GANADEROS DE VACUNO DE CARNE EN EL PIRINEO CENTRAL

García-Martínez A.¹ Olaizola A.M.² y Bernués A.¹

¹CITA Gobierno de Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza. abernues@aragon.es

²Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La ganadería de vacuno de montaña ha evolucionado intensamente en los últimos años (García-Martínez *et al.*, 2006) y en estos momentos se encuentra en una etapa crucial de transición, influenciada por múltiples factores socio-económicos entre los que cabe destacar: las nuevas demandas sociales de tipo ético (protección del medio ambiente, bienestar animal, calidad); la reforma intermedia de la PAC que supone el desacoplamiento parcial de algunas ayudas y su disminución progresiva; así como el aumento de la importancia de nuevas actividades económicas ligadas al sector de la construcción y el turismo. Ante esta situación la toma de decisiones de los ganaderos se torna más difícil y compleja. El comportamiento de los ganaderos no sigue criterios uniformes de optimización productiva y/o económica sino que frecuentemente intervienen numerosos factores de tipo socio-cultural y familiar. En este trabajo se presentan los primeros resultados del análisis de la importancia relativa de los diversos objetivos de los ganaderos, así como de sus opiniones sobre su actividad y el entorno en que se desarrolla, así como las diferencias observadas en 3 valles pirenaicos con contextos socio-económicos diferentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado en los valles de Broto (n=22), Benasque (n=21) y Baliera-Barrabés (n=28) en el Pirineo Central oscense. La información se ha recogido mediante una encuesta directa dirigida a 71 explotaciones, en 2004. El cuestionario incluía un apartado con preguntas sobre objetivos y opiniones de los ganaderos medidas mediante la escala de Likert con valores 1 a 5 (Figuras 1 y 2). Las diferencias entre valles se han analizado mediante un análisis de varianza con un factor.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerada la muestra globalmente, el más importante entre los objetivos de los ganaderos es el que se refiere a mejorar la calidad de vida familiar, seguido de un grupo de objetivos económicos (maximizar los ingresos y las ayudas y minimizar los costes) y productivos (maximizar la producción y mejorar la calidad) (Figura 1). Así mismo, objetivos como tener prestigio entre los ganaderos y mejorar el medio ambiente también tienen elevada relevancia. Los de menor importancia son aquellos referidos a la dimensión de la explotación tanto en el sentido de su aumento como su disminución, lo cual indicaría que la dimensión de las explotaciones se encuentra en equilibrio, según lo perciben los ganaderos. También tiene poca importancia el objetivo de abandonar la actividad, aunque con diferencias entre valles que luego se comentan. Algunos objetivos con una importancia intermedia se refieren a aspectos técnicos (incrementar el pastoreo, mejorar las instalaciones y adoptar nuevas tecnologías), reducción del trabajo en la explotación y la diversificación hacia otras actividades económicas, entre ellas el turismo.

Sin embargo, las diferencias entre los valles estudiados son notables. Los ganaderos del valle de Benasque (situado a las puertas del Parque Natural de Possets-Maladeta y de la estación de esquí de Cerler) son los que más difieren en sus objetivos. La intención de abandono de la actividad es mucho mayor en este valle ($p < 0,01$). En general, asignan bastante menos importancia a los objetivos económicos (maximizar ingresos ($p < 0,05$) y minimizar costes) y, sobre todo, productivos (reinvertir en ganadería, incrementar el tamaño, incrementar el pastoreo, mejorar las instalaciones). También es relevante la menor importancia que asignan a los objetivos referidos a sus descendientes ($p < 0,001$), a disponer de más vacaciones ($p < 0,05$) y a su prestigio profesional, aunque sobre este último las diferencias no son significativas.

Los ganaderos del valle de Broto y Baliera-Barrabés tienen objetivos más similares, aunque se pueden señalar algunas diferencias. Los de Broto (situado a las puertas del Parque Nacional de Ordesa) asignan más importancia a diversificar su economía e invertir en turismo, incrementar el pastoreo ($p < 0,05$) y mejorar la educación de los hijos, así como mejorar la explotación para éstos. Los de Baliera-Barrabés apuestan en mayor medida por maximizar la producción ganadera y adoptar nuevas tecnologías en la explotación ($p < 0,05$).

Respecto a las opiniones de los ganaderos, en el conjunto de la muestra (Figura 2) llama la atención el grado de pesimismo sobre el futuro del sector, observándose también que los ganaderos perciben que la ganadería puede verse desplazada por el turismo. El resto de opiniones expresadas tienen un alto índice de acuerdo, sobre todo en la necesidad de mantener el medio ambiente, la importancia de la PAC para su actividad y la necesidad de la información para una buena gestión.

Así mismo, se observan importantes diferencias entre los valles considerados. Las más notables corresponden de nuevo a los ganaderos del valle de Benasque, los cuales son comparativamente mucho más pesimistas sobre el futuro del sector en su zona; a esto se une una mayor percepción de desplazamiento de su actividad por el turismo ($p < 0,001$). Además, también se muestran algo más en desacuerdo con las afirmaciones sobre la necesidad de crear una marca del Pirineo, de mayor apoyo técnico, de reducir la contaminación, mantener la tierra en buen estado y de informarse mejor para una buena gestión, aunque las diferencias entre valles no son estadísticamente significativas. Por otro lado, el perfil de opiniones de los ganaderos de los valles de Broto y Baliera-Barrabés es muy similar; en Broto el grado de acuerdo con casi todas las afirmaciones (excepto el orgullo de ser ganadero) es superior, sobre todo en la necesidad de diversificar la economía del valle.

De los resultados expuestos pueden destacarse algunas consideraciones. En primer lugar, los objetivos de los ganaderos no sólo están relacionados con aspectos técnico-económicos de la propia explotación, sino que presentan una elevada importancia los aspectos familiares y de calidad de vida, así como la consideración del entorno físico y socio-económico que rodea a las explotaciones. Las variables referidas al entorno contribuyen a explicar en gran medida las diferencias en los objetivos y opiniones de los ganaderos en los valles estudiados. Así en el de Benasque, la expansión del sector turístico ha sido más intensa y desde hace más tiempo que en el de Broto y, sobre todo, que en el de Baliera-Barrabés. Los ganaderos de Benasque muestran menor interés en reinvertir en la explotación, así como en mejorar los aspectos técnicos del sistema. El abandono de la actividad se plantea en mayor grado que en otros valles y consecuentemente importan menos los aspectos que tienen que ver con la continuidad de la explotación. Se observa pues un fenómeno de desplazamiento de la agricultura por el modelo turístico observado en la zona, que es percibido por los propios ganaderos. Los ganaderos de Broto muestran mayor interés en diversificar la economía del valle e invertir en turismo, sin embargo no parece que estos objetivos menoscaben el interés por continuar y mejorar la actividad ganadera. No obstante, para profundizar en el análisis de los objetivos y opiniones de los ganaderos, sería necesario abordar otras variables referidas a la propia explotación, como las características familiares, además de los condicionantes del entorno.

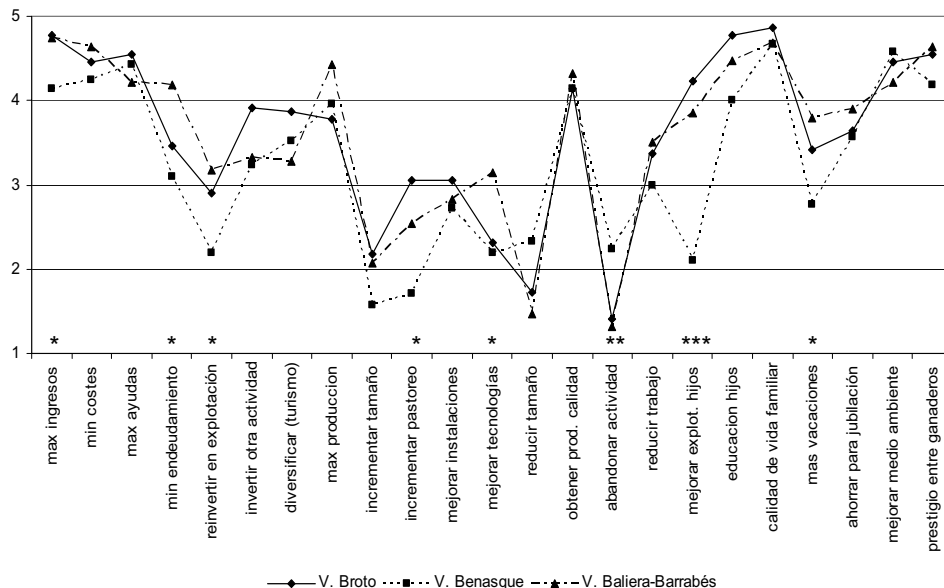
AGRADECIMIENTOS

i) Proyecto INIA RTA03-029-C2-1, cofinanciado por FEDER; ii) CONACYT-Gobierno de México y Fundación Carolina; iii) Ganaderos de los valles de Broto, Benasque y Baliera-Barrabés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

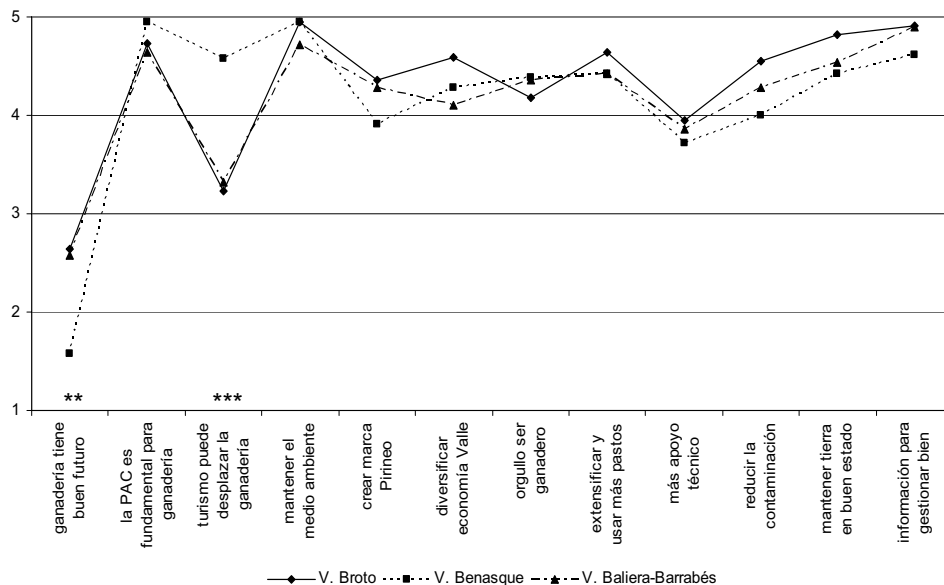
García-Martínez A., Bernués A., Riedel J.L., Olaizola A.M., 2006. Recent evolution of suckler cow farming systems in the Spanish central Pyrenees. 2nd Seminar of the Med. Liv. Farming Network 'Mediterranean livestock production: uncertainties and opportunities', 18-20 May 2006, Zaragoza.

Figura 1. Importancia relativa de los objetivos de los ganaderos



Nota: 1=nada importante; 2=poco imp.; 3=imp.; 4 bastante imp; 5 muy imp. * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001

Figura 2. Importancia relativa de las opiniones de los ganaderos



Nota: 1=totalmente en desacuerdo; 2=bastante desac.; 3=neutral.; 4 bastante de acuerdo; 5 totalmente acuerdo.

CAMBIOS TECNOLÓGICOS EN LOS SISTEMAS DE VACUNO DE CARNE DEL PIRINEO CENTRAL

García-Martínez A.¹ Olaizola A.M.², Bernués A.¹

¹CITA Gobierno de Aragón, Apdo. 727, 50080 Zaragoza. abernues@aragon.es

²Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La innovación constituye una de las bases fundamentales del desarrollo de cualquier sector de la economía. El grado de desarrollo tecnológico determina, en buena medida, las posibilidades para el empleo de recursos productivos y el grado de eficiencia. Así, la consecución de avances en la productividad agraria depende de la capacidad de generar tecnologías ecológicamente adaptadas y económicamente viables (Ruttan y Hayami, 1989). El concepto de innovación se refiere a nuevas combinaciones de factores y de capacidades productivas que hacen a las empresas más competitivas y son causa de ajuste estructural en el sistema económico. El estudio de la adopción de tecnologías agrarias, y de los factores que la desencadenan, es un tema de gran actualidad. El comportamiento del agricultor frente al cambio tecnológico está relacionado con características sociodemográficas, socio-psicológicas y características de la propia explotación. Este trabajo, en una primera aproximación al estudio de los cambios e innovaciones tecnológicas adoptados por los ganaderos de vacuno de carne de montaña, analiza los cambios tecnológicos producidos en un periodo de cinco años, así como sus perspectivas de innovación para el futuro en tres valles del Pirineo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado en los valles de de Broto (n=22), Benasque (n=21) y Baliera-Barrabés (n=28) (Pirineo Central oscense). La información se ha obtenido mediante encuesta directa a 71 explotaciones de vacuno realizada en 2004. El cuestionario recogía información sobre los cambios tecnológicos e innovaciones implementadas en los 5 años previos a la realización de la encuesta, así como las previsiones de los ganaderos sobre estos mismos aspectos para los siguientes 5 años (Figura 1). Los cambios tomaban valores 1 ó 0 en función de si habían tenido lugar o no, o si el ganadero tiene intención o no de adoptarlos. Las diferencias entre valles se han analizado mediante un test de Chi^2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Considerados los 3 valles globalmente, los cambios producidos con mayor frecuencia, en el periodo 1998-2003 han sido, por este orden: la mejora de las instalaciones, el aumento de las superficies de pastoreo, cambios en el sistema de alimentación, el cercado de superficies de pastoreo y la incorporación de las producciones a marcas de calidad (Figura 1a). Otro cambio notable acontecido es la diversificación de la actividad del núcleo familiar hacia el sector turístico, sin embargo otros como la sustitución de las razas de los animales, el cambio de la orientación productiva del ganado vacuno o la incorporación de nuevas especies ganaderas han tenido poca relevancia. Respecto a la dimensión, el 37% del total de la muestra ha aumentado el rebaño y el 32% las superficies disponibles.

El análisis por valle permite observar como, de manera general, los cambios han sido más intensos en el valle de Baliera-Barrabés y menos en el de Benasque. Se observan diferencias significativas en el aumento de rebaño ($p<0,05$) y el cercado de las superficies para pastoreo. En los valles de Baliera y Broto el 67 y 50 % de las explotaciones respectivamente han aumentado el rebaño, mientras que en Benasque sólo el 33% de la muestra ha aumentado, siendo el mismo porcentaje las que han disminuido. Sin embargo, la mejora de las instalaciones ha tenido mayor repercusión en las explotaciones de los valles de Baliera y Benasque que en las del valle de Broto. En este último destaca el cambio de orientación productiva ($p<0,001$), debido fundamentalmente a que esta zona fue una de las últimas en abandonar la producción lechera. También puede subrayarse la diversificación

del trabajo familiar hacia el turismo, mientras que en Benasque destacan los cambios en el sistema de alimentación.

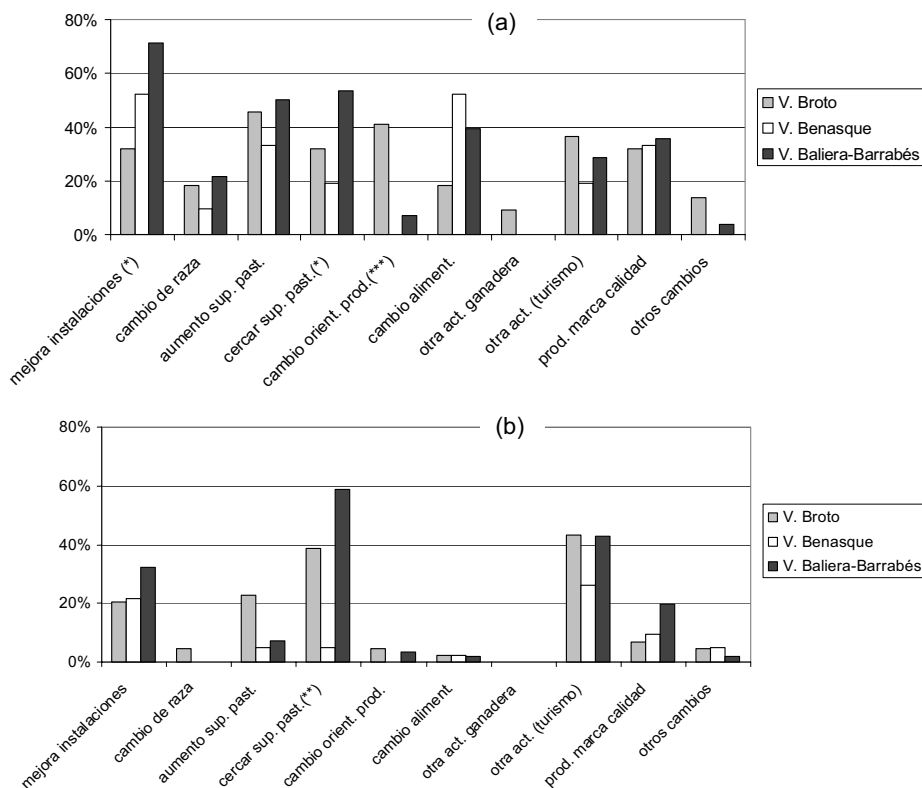
En relación a la intención de cambio e innovación, tal y como la manifestaron los ganaderos en el desarrollo de la encuesta (Figura 1b), puede observarse que destacan por su importancia la diversificación hacia la actividad turística, el cercado de superficies de pastoreo, la mejora de las instalaciones y, en menor medida, el aumento de las superficies de pastoreo y la producción de carnes de calidad diferenciada. Otros aspectos productivos como el cambio de raza, de orientación productiva, de especie o del sistema de alimentación apenas son previstos, por lo que puede pensarse que dichos cambios no serán importantes en el futuro. Por el contrario, se observa una elevada frecuencia de explotaciones (26%) que prevén una disminución del tamaño de rebaño, de las superficies, e incluso el abandono de la actividad ganadera (17%).

Las diferencias entre valles más manifiestas son respecto al tamaño de rebaño ($p < 0,01$), siendo la disminución más importante en las explotaciones de Benasque (57% explotaciones), mientras que en Broto se prevé el aumento en algunas explotaciones (18%). Así mismo, el incremento de las superficies de pastoreo cercadas presenta diferencias significativas entre los valles estudiados, siendo mayor en los valles de Baliera-Barrabés y Broto e inapreciable en Benasque ($p < 0,01$). Es evidente que los ganaderos del valle de Baliera-Barrabés se muestran más dinámicos, con mayores intenciones de innovación y mejora, seguidos de los ganaderos del valle de Broto. En cuanto a los ganaderos de Benasque, sus intenciones de mejora y/o ampliación de la actividad agraria son muy poco relevantes, más bien al contrario, muestran claros signos de reducción y abandono.

En la Figura 2 pueden observarse de manera sintética las diferencias en el grado de dinamismo o innovación de los ganaderos entre las épocas previa y posterior a la encuesta (adopción real e intenciones futuras) y entre valles. Los ganaderos del valle de Baliera-Barrabés han sido los más innovadores en el periodo 1998-2003, seguidos de los de Broto y por último Benasque. El patrón se repite para el periodo 2004-2009, aunque parece que los ganaderos de Broto se muestran ligeramente más dispuestos de implementar cambios que los de Baliera-Barrabés. Especialmente llamativa es la diferencia entre el valor medio del índice de innovación pasado y el futuro, siendo éste último mucho más bajo, lo que indicaría que los cambios en los sistemas de producción de vacuno de carne en montaña y la adopción de tecnologías previsiblemente serán menores.

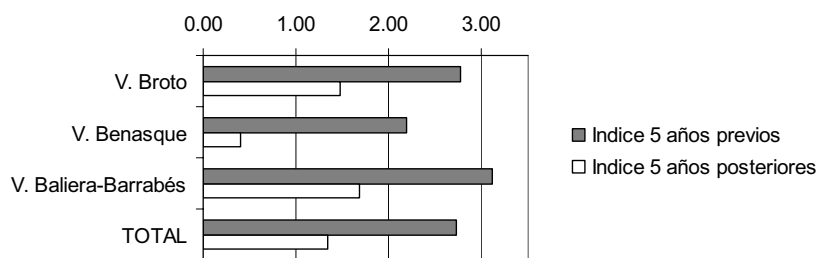
Tal y como se apuntaba en el trabajo que acompaña a éste y que analiza los objetivos y opiniones de los ganaderos, el entorno socio-económico donde se ubican las explotaciones contribuye a explicar en gran medida las diferencias observadas entre valles. Parece evidente que el mayor peso y la naturaleza del sector turístico en el valle de Benasque está provocando menores tasas de adopción de tecnologías en las explotaciones y una mayor sustitución de la actividad agraria, cuya disminución parece que seguirá siendo más acentuada en el futuro inmediato (el 31% de las explotaciones no piensa continuar en un futuro, en Baliera-Barrabés el 14 % y en Broto el 7%). En los valles de Broto y Baliera-Barrabés, si bien las familias de los ganaderos han iniciado actividades de turismo o tienen intención de hacerlo, parece que el fenómeno de competencia entre ambas actividades no ha sido tan intenso y se observa mayor complementariedad. No obstante, sería necesario profundizar en el estudio de otras variables referidas a la familia y a la propia explotación que inciden en el comportamiento de los ganaderos.

Figura 1. Cambios y adopción de tecnologías en (a) los 5 años previos a la encuesta y (b) previsiones para los 5 años posteriores



Chi²: * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001

Figura 2. Índice global medio de innovación en los 3 valles



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. Se agradece especialmente la contribución de los ganaderos del Pirineo Oscense.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ruttan, V., Hayami W., 1989. El cambio técnico inducido en la agricultura. Agricultura y Sociedad 53, 19-72.

EFFECTO DE DISTINTAS ALTERNATIVAS DE CEBO SOBRE LOS RENDIMIENTOS TÉCNICO-ECONÓMICOS DE TERNEROS ENTEROS Y CASTRADOS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA¹

Abidi, W., Blanco, M., Joy, M., Casasús, I.
Unidad de Tecnología en Producción Animal.
CITA-Gobierno de Aragón. Apdo. 727. 50080-Zaragoza. icasasus@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Las bases tradicionales de la producción de vacuno de carne se ven afectadas en la actualidad por diversos cambios socioeconómicos y de mercado, así como por la necesidad de integrar la dimensión medioambiental en la gestión de las explotaciones.

En condiciones de montaña, el cebo de terneros en praderas tras un corto periodo de estabulación invernal con crecimiento limitado puede suponer una alternativa interesante a los sistemas de cebo intensivo. Sin embargo, la inclusión de forraje en las dietas de cebo puede alargar el ciclo productivo, por lo que se hace necesaria la castración de los terneros para evitar problemas de manejo. Ambas circunstancias pueden modificar tanto los rendimientos de los animales como la calidad final del producto (Shahin *et al.*, 1993; Geay *et al.*, 2001). A su vez, este manejo permitiría producir una carne de calidad diferenciada con un óptimo aprovechamiento de los recursos naturales disponibles, y en determinadas condiciones podría ser compatible con la producción ganadera ecológica.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintas alternativas de manejo sobre los rendimientos técnicos y económicos de terneros de raza Parda de Montaña.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 terneros de raza Parda de Montaña, nacidos en la Finca Experimental "La Garcipollera" (Pirineo oscense) en la primavera del 2005. Los terneros permanecieron junto a sus madres en establo hasta los tres meses de edad y en pastoreo en puertos de montaña hasta el destete a los 8 meses. Posteriormente se trasladaron a las instalaciones del CITA en Montañana (Zaragoza), donde 16 de ellos se castraron mediante ablación quirúrgica. Tras su recuperación todos los terneros se distribuyeron en tres lotes experimentales homogéneos en peso (media de 213.3±7.07 kg), con ocho animales por lote.

Se evaluaron tres manejos alimenticios, aplicados hasta que los animales alcanzaron los 500 kg de peso vivo, momento en el que se procedió a su sacrificio. Ocho animales enteros (lote TESTIGO) se cebaron de forma convencional en establo, con pienso comercial y paja a voluntad y se comercializaron como Añojos. El resto de animales, comercializados como Cebones (machos castrados menores de 48 meses), se dividieron en dos lotes: cebones sin acabado (lote CB) y cebones con acabado en establo (lote CB+ACB). Durante el invierno (140 días, del 1 de diciembre al 18 de abril) todos los cebones recibieron una dieta constituida por una mezcla unifeed de heno de alfalfa (60%) y harina de maíz (40%), en proporción acorde con la normativa de ganadería ecológica (R.CEE N° 2092/91). Tras la estabulación invernal, los dos lotes de cebones pastaron en la Finca La Garcipollera sobre una pradera polifita de 2.4 ha, con una suplementación diaria de 2 kg de harina de maíz por cabeza. La pradera se dividió en tres subparcelas de 0.8 ha, en las que los 16 animales pastaron en rotaciones quincenales, con una carga ganadera de 6.6 animales/ha. Durante los dos últimos meses (inicio 12 de julio), los terneros CB-ACB se estabularon y recibieron la misma dieta que durante el invierno (60% heno de alfalfa y 40% harina de maíz), mientras que el lote CB permaneció en pastoreo hasta el sacrificio. Todos los animales tuvieron siempre libre acceso a agua y complemento vitamínico-mineral.

Los animales se pesaron semanalmente, y su ganancia media diaria (GMD) se estimó por regresión del peso sobre la fecha. El consumo de alimento en establo se registró diariamente por lote, tanto durante la invernada como en el acabado. La disponibilidad de hierba en la pradera se determinó quincenalmente mediante siega de 8 cuadros de 0.25 m²

¹ Financiación procedente de MCyT (AGL 2002-00027, INIA RTA-30-031) y fondos FEDER.

por subparcela, antes y después del pastoreo del ganado. La ingestión de hierba se estimó a partir de la biomasa presente antes y después del pastoreo y de la tasa de crecimiento diario del pasto en estas condiciones (Alvarez-Rodríguez *et al.*, 2006). La valoración económica se hizo a partir del gasto medio de una pradera polifita, del precio real de los alimentos y del precio de la canal establecido por la Lonja Agropecuaria del Ebro para las categorías de peso y conformación correspondientes.

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 estandar de la diferencia (e.e.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los pesos de los animales se expresan en la Tabla 1 y sus ganancias en los distintos periodos se presentan en la Figura 1.

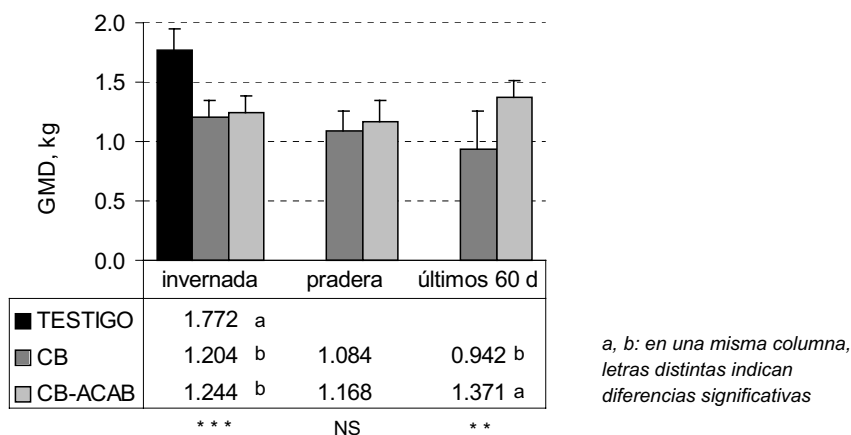
Tabla 1. Pesos de los terneros a lo largo del ensayo según su manejo.

Lote	TESTIGO	CB	CB + ACB	e.e	Sign.
Peso inicial (kg)	219	214	207	22.0	NS
Peso fin invierno (kg)	461 ^a	371 ^b	371 ^b	30.0	**
Peso 60 d pre-sacrificio (kg)	-	437	429	19.2	NS
Peso sacrificio (kg)	495	502	501	28.7	NS
Edad al sacrificio (d)	442 ^b	569 ^a	539 ^a	27.0	***

NS: P>0.05; **: P<0.01; ***: P<0.001.

a, b: letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas (p<0.05)

Figura 1. Ganancias de los terneros en las distintas fases del ciclo productivo.



El peso al final de la invernada fue diferente entre tratamientos (P<0.01). Los animales del lote TESTIGO tuvieron un peso muy superior a los cebones, debido a su mayor GMD durante dicha fase (p<0.001), que fue similar a la descrita por Albertí *et al.* (1997) para terneros de esta raza en cebo intensivo. No hubo diferencias en el peso final de los terneros de ambos lotes de cebones ni en sus ganancias, que fueron algo superiores a los 1.078 kg/d descritos por Joy *et al.* (2006) en cebones alimentados con una dieta similar.

Durante el pastoreo conjunto en pradera, los lotes CB y CB+ACB tuvieron similares pesos y ganancias. Durante la fase final, iniciada 2 meses antes del sacrificio, los terneros del lote CB+ACB en establo mostraron una ganancia de peso superior (P<0.01) a la observada en el tratamiento CB, que continuaba en pastoreo. La ganancia en pastoreo fue algo inferior a la descrita por Blanco *et al.* (2005) en terneros de similares características que pastaban de forma rotacional en praderas de alfalfa, especialmente en los dos meses previos al sacrificio. Esta diferencia se debería a que la productividad de las praderas

polifitas en montaña es menor a la de otros tipos de cultivos forrajeros con manejo más intensivo (Ferrer, 1988).

Como consecuencia de las ganancias descritas, los animales del lote TESTIGO alcanzaron el peso objetivo al sacrificio a una edad más temprana ($P < 0.001$), mientras que no hubo diferencias entre ambos lotes de cebones (Tabla 1).

Las ingestiones diarias medias y los índices de conversión durante las distintas fases se presentan en la Tabla 2. Los terneros del lote TESTIGO presentaron un mejor índice de conversión que los dos lotes de cebones, al tratarse de una dieta con mayor concentración energética y por ser terneros enteros, que son más eficientes que los castrados (Koletzko *et al.*, 1998). Esta eficiencia fue similar a la descrita por Albertí *et al.* (1997) para terneros de esta raza cebados en condiciones análogas.

Durante el pastoreo, se estimó una ingestión media de 1.76 kg MS de maíz y 8.5 kg MS de hierba por animal y día, manteniéndose la proporción de concentrado dentro del rango exigido en ganadería ecológica (máximo del 40% de la ración diaria). Esta ingestión de pasto, equivalente a 19.5 g MS/kg de peso vivo, es similar a la observada por Ferrer y Petit (1995) en novillas de la misma edad en praderas de dactilo. En la fase de acabado, los cebones CB+ACB presentaron una ingestión de 10.5 kg MS/día, que se tradujo en un índice de conversión semejante al observado en invernada en los tratamientos CB y CB+ACB.

Tabla 2. Ingestión diaria e índice de conversión de los alimentos.

Lote	TESTIGO	CB	CB+ACB
<i>Ingestión</i>			
Invernada			
Pienso (kg MS)	6.72	-	-
Unifeed (kg MS)	-	8.24	7.80
Pradera			
Hierba (kg MS)	-	8.5	8.5
Maíz (kg MS)	-	1.76	1.76
Últimos 60 d			
Unifeed (kg MS)	-	-	10.52
Hierba (kg MS)	-	6.12	-
Maíz (kg MS)	-	1.76	-
<i>Índice de conversión</i>			
Invernada	3.92	7.35	6.66
Pradera	-	8.46	8.38
Últimos 60 d	-	8.24	6.84

Los costes de alimentación por kg de canal vendido fueron muy superiores en el lote CB+ACB con respecto al resto (1.34 €/kg frente a los 0.95 del lote TESTIGO y 0.96 del lote CB). Además, el precio de venta por kg de canal fue algo inferior en este lote, por una peor conformación (Abidi *et al.*, 2007) (3.56 €/kg frente a 3.74 en el lote TESTIGO y 3.82 en el lote CB), por lo que este manejo no parece recomendable en términos económicos. En cambio, la producción de cebones en pradera (lote CB), puede realizarse a precios muy competitivos. Si la carne producida en estas condiciones presentase un mayor valor añadido ligado a la producción alternativa o ecológica, este manejo podría considerarse muy ventajoso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abidi *et al.*, 2007. XII Jornadas AIDA de Producción Animal
- Albertí, 1995. BOVIS: 13-27.
- Albertí *et al.*, 1997. ITEA 18: 745-747.
- Alvarez-Rodriguez *et al.*, 2006. BGS 8th Research Conference.
- Blanco *et al.*, 2005. ITEA 18: 216-218.
- Ferrer, 1988. XXVIII Reunión Científica S.E.E.P.: 23-65.
- Ferrer y Petit, 1995. Anim. Sci. 61: 497-506.
- Geay *et al.*, 2001. Reprod. Nutr. Develop. 41: 1-26.
- Joy *et al.*, 2006. VII Congreso S.E.A.E.
- Koletsko *et al.* 1998. British J. Nutr. 80: S5-S45
- Shahin *et al.*, 1993. Livest. Prod. Sci. 33: 43-54.

CEBO DE TERNEROS CON DISTINTAS RACIONES DE CONCENTRADO: FORRAJE EN ALIMENTACIÓN ECOLÓGICA.

Silva M.T.¹, Velasco S.¹, Jiménez M.², Tejerina J.I.³, Cuevas F.J.², Dochao J.², Urquía J.J.³

¹IMIDRA. Apartado 127, 28800 Alcalá de Henares, Madrid; mteresa.silva@madrid.org.

²IMIDRA. CENSYRA, Colmenar Viejo. ³IMIDRA. Ronda de Atocha, 17, 4ª planta. Madrid.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda por parte del consumidor de alimentos sanos y seguros al igual que una mayor preocupación sobre el origen y modo de producción de los alimentos nos ha llevado a un auge de la agricultura y ganadería ecológicas (más respetuosa con el entorno) y al desarrollo de un gran número de marcas de calidad, denominaciones de origen e indicaciones geográficas protegidas, entre otros, como herramientas para dar respuesta a esa necesidad. En la actualidad, las zonas de pradera, de montaña, desfavorecidas o de dehesas están principalmente orientadas a la producción de carne y aquí la ganadería ecológica puede presentar una oportunidad para estos productores. Así, la raza empleada en nuestro estudio es una de las grandes razas autóctonas Españolas situada en el centro peninsular, y zonas limítrofes de Castilla y León; típica de montaña y de paisajes adehesados.

El objetivo de este estudio fue evaluar la producción de carne de vacuno en ecológico. Se valoró la aptitud cárnica de la raza Avileña-Negra Ibérica en terneros sometidos a un cebo con racionamiento limitado mediante un modelo de ganadería ecológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 10 terneros machos de raza Avileña-Negra Ibérica. Son animales nacidos de madres inscritas en el Libro Genealógico de su raza procedentes de una explotación ecológica de vacuno de carne (Buitrago de Lozoya, Madrid). Fueron alimentados con leche materna y criados en extensivo junto a sus madres hasta que se destetaron con una media de edad de 6,5 meses. Una vez destetados permanecieron en recría en la misma explotación alimentándose con pastizal de verano, concentrado ecológico (de arranque) y paja *ad libitum*.

Tras la recría los animales fueron llevados al CENSYRA (Centro de selección y reproducción de la Comunidad de Madrid, Colmenar Viejo) y se dividieron en dos lotes, de cinco animales cada uno para comenzar la experiencia. Los animales de un mismo lote presentaron similar edad y peso al inicio del cebo. Se les dotó de un transponder con el fin de controlar y limitar la dispensación de concentrado mediante un sistema computerizado. Los animales durante la fase de acabado (cebo) fueron alojados en parques contiguos con una superficie total de 300 m² cada uno donde, 180 m² eran de suelo de tierra al aire libre y los 120 m² restantes eran cubiertos y con suelo de cemento y cama de viruta y paja. Siguiendo el esquema de la ganadería ecológica, los animales no fueron sometidos a tratamientos veterinarios habituales (salvo los estrictamente necesarios), ni prácticas que pudieran causar daño o estrés y se aseguró en todo momento su bienestar y comportamiento natural.

Los terneros fueron sometidos a las mismas condiciones de manejo salvo la dieta que presentaba distinto porcentaje de concentrado y forraje en la ración diaria. 5 animales formaron parte del lote "concentrado alto" (CA) con una ración del mismo limitada a 9 kg/animal/día y paja *ad libitum* como forraje diario. Los 5 terneros restantes se agruparon en el lote "concentrado bajo" (CB) con ración limitada a 5 kg/animal/día, heno de hierba y paja a libre disposición. Cada uno de los componentes de la ración diaria de ambos lotes se analizó químicamente y se determinó su contenido en materia seca, cenizas, proteína bruta y fibra (AOAC, 1990).

Para tener un seguimiento de la ganancia media diaria los animales fueron pesados al inicio, cada 15 días, y al final del cebo. Los animales del lote CA tuvieron un peso medio inicial de 442,80 kg y los del lote CB de 459,80 kg.

Pasados los tres meses de cebo (95 días), los animales fueron sacrificados en un matadero comercial siguiendo los procedimientos habituales. Las canales fueron pesadas inmediatamente después del sacrificio obteniendo el peso de la canal caliente (PCC) y estimándose el peso de la canal fría (PCF) y el rendimiento de la canal. Se evaluaron las canales según la conformación y el engrasamiento (CEE 1208/81, 2930/81 y 1026/91).

Los datos productivos de los terneros se analizaron mediante el procedimiento ANOVA, considerando la alimentación o lote como efecto fijo a estudiar (Statgraphic Plus, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las composiciones químicas del pienso y forraje expresados en porcentaje sobre materia seca se muestran en la Tabla 1. Toda la alimentación suministrada a los animales procede de la agricultura ecológica siguiendo la normativa vigente.

Tabla 1. Composición química y valor nutritivo de los componentes de la dieta en la fase de cebo (sobre materia seca, expresados en porcentaje).

Composición (%)	Concentrado	Heno de hierba	Paja
Humedad	11,93	7,30	7,40
Materia seca	88,07	92,7	92,6
Proteína bruta	13,04	-	-
Grasa bruta	2,75	-	-
Fibra bruta	4,96	-	-
Cenizas	4,14	-	-
FAD	-	42,1	37,0
FND	-	69,8	70,7
Lignina	-	5,00	3,30
Nitrógeno	-	1,40	1,02

En la Tabla 2 se analizan los consumos medios de los animales pertenecientes a cada lote de alimentación. Vemos que la relación concentrado:forraje durante la fase de acabado para el lote CA fue de 65:35 y de 45:55 para el lote CB (expresados ambos sobre materia seca).

Tabla 2. Consumos medios de concentrado y forraje en la ración durante la fase de cebo.

Alimentación	Paja (Kg)	Heno (Kg)	Total forraje	Pienso (kg)	Total alimento
CA	342.4	0	342.2	731.8	1074
CB	339.2	136.6	475.8	434.2	910

Los índices del rendimiento productivo están detallados en la Tabla 3. Todas las canales obtenidas fueron clasificadas por expertos de la Asociación de Avileña-Negra Ibérica resultando como R3.

En el cebo, los añajos del lote CA presentaron una ganancia media diaria ($p \leq 0,01$), un consumo de pienso ($p \leq 0,001$) y un índice de transformación del pienso en carne ($p \leq 0,05$) significativamente mayores que los del lote CB. El peso de la canal no presentó diferencias significativas entre los lotes ($p = 0,085$), aunque sí una tendencia a canales más pesadas en el lote CA ya que los animales pertenecientes a este lote tuvieron mayor peso al sacrificio aunque sin resultar estadísticamente significativo. Observamos también que al contrario de lo que se pudiera esperar, el lote CB mostró un mejor índice de conversión pudiendo deberse a un mejor aprovechamiento energético frente a una ración muy limitada. Analizando los resultados vemos que el PCC obtenido en nuestro lote CB es muy parecido a los obtenidos por Albertí *et al.* (2001) y Campo *et al.* (1999) para añajos pesados de Avileña-Negra Ibérica sacrificados a un menor peso medio (544 kg). En ese mismo trabajo de Albertí

et al. (2001) se obtuvieron rendimientos mayores a los nuestros para ambos lotes (CA y CB) aunque todas las canales resultaron también clasificadas como R3.

Tabla 3. Medias y error estándar de los rendimientos productivos de añajos de raza Avileña-Negra Ibérica cebados mediante un sistema ecológico y racionamiento de concentrado.

	Lote CA (n=5)	Lote CB (n=5)	P	e.s
Peso sacrificio (kg)	590,93	568,46	0,190	11,11
Edad sacrificio (d)	505,00	539,00	0,221	18,10
GMD (kg)	1,57	1,16	0,008	0,08
Consumo pienso (kg)	732,00	434,00	0,000	6,79
IT pienso (kg pienso/kg carne)	5,13	4,13	0,037	0,28
PCC (kg)	334,92	316,92	0,085	6,48
PCF (kg)	328,22	310,58	0,085	6,35
Rdto. Matadero (%)	55,57	54,63	0,368	0,70

CA=concentrado alto; CB=concentrado bajo.

La aprobación en 1991 del Reglamento (CEE) 2092/91 (con modificaciones posteriores) supuso la creación de un marco legal donde se recogían una serie de disposiciones de manejo y agrícolas que tienen como fin el aprovechamiento de los recursos, el desarrollo rural, la unión de agricultura y ganadería y el bienestar animal. En él se recoge que la alimentación estará constituida, al menos en un 60% de la materia seca, por forrajes comunes y también se señala que el período final de engorde o cebo (que transcurre con el animal estabulado) no puede superar en cualquier caso un máximo de tres meses. La carne obtenida en esta experiencia no podría etiquetarse como producto ecológico al no ajustarse estrictamente a lo arriba mencionado.

Con nuestros resultados podemos concluir que los rendimientos productivos de la raza Avileña-Negra Ibérica se vieron influenciados por la restricción de concentrado, ya que los animales pertenecientes al lote CB tuvieron una menor ganancia media diaria viendo disminuido su potencial desarrollo cárnico a pesar de convertir el pienso en carne de manera más eficaz gracias a un mayor índice de transformación en pienso. La ganadería ecológica deja de manifiesto la necesidad de incrementar el período de cebo para mejorar la calidad de la canal. Así mismo, queda claro que la base para la sostenibilidad de un sistema ecológico es la integración de la agricultura y la ganadería dentro de la explotación, ya que así el recurso vegetal propio se convierte en la principal fuente de ingesta animal.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del proyecto FP06-GAN1-ECOL (IMIDRA). Agradecemos a la Asociación de Avileña-Negra Ibérica y a “Cárnicas Chapa” por habernos facilitado la toma de muestras y a Ignacio Sanjuán por su asistencia técnica. M.T. Silva cuenta con una beca predoctoral financiada por el INIA.

BIBLIOGRAFIA

- 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 Extra 22: 511-513.
- Association of Official Analytical Chemists, (AOAC). Official methods of analysis 1990.
- Campo M.M., Sañudo C., Panea B., Albertí P., Santolaria P. 1999. “Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks”. Meat Science 51: 383-390.
- CEE 1208/81, 2930/81 y 1026/91, modelo comunitario de clasificación de canales de bovinos pesados. Oficina de publicaciones oficiales de las comunidades Europeas, L-2985 Luxemburgo).

EFFECTO DEL SEXO SOBRE LOS RESULTADOS ECONÓMICOS DEL CEBO DE TERNEROS

Daza, A.

Departamento de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.
Universidad Politécnica. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid. argimiro.daza@upm.es

INTRODUCCIÓN

La reciente modificación de la PAC en lo concerniente a la prima anual del vacuno macho (supresión de la misma excepto en las explotaciones receptoras de pago único) está teniendo, actualmente, en las explotaciones de cebo de terneros, repercusiones económicas importantes en el sentido de provocar una reducción ostensible del beneficio en el cebo de los terneros machos. Dado el interés económico coyuntural del tema, en el presente trabajo se estudia, para un caso particular de una finca del ecosistema de la Dehesa, el efecto del sexo sobre los resultados técnicos y económicos del cebo de terneros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recabado los resultados técnicos y los datos económicos del cebo de 28 terneros machos y 27 hembras Charolais x Retinto en régimen intensivo en una explotación de dehesa de ciclo cerrado en Extremadura. Se controlaron individualmente los pesos iniciales, finales, pesos canal de los terneros y duración del cebo, el consumo de paja y de pienso por grupo, los costes en tratamientos sanitarios, conservación y reparaciones, mano de obra y generales o varios (transporte, energía, agua, seguros, impuestos, oficina, costes de representación, etc). El peso medio inicial y final, la ganancia media diaria, la duración del cebo, el peso canal y el rendimiento a la canal se cotejaron, según el sexo, mediante un análisis de varianza y covarianza que incluyó el sexo del ternero como factor principal y el peso inicial de los animales como covariable. Para el cálculo de los costes de producción se utilizó el método propuesto por Alonso y Serrano (1991, 2004). Se consideró una vida útil de las instalaciones de 30 años y una inversión por plaza de cebo, según datos recabados del proyecto de ejecución del cebadero, de 560 euros y los intereses del capital del 3,5% anual. Mediante la hoja de cálculo Excel se estudió la influencia de los precios de adquisición y de venta del kg de ternero sobre la ganancia por ternero macho.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 aparecen reflejados los resultados técnicos y costes de producción de los terneros según sexo. Corrigiendo el peso inicial introduciéndolo como covariable en el modelo estadístico, los machos crecieron significativamente ($P < 0,01$) más que las hembras (1,465 vs 1,215 kg). No se observaron diferencias estadísticamente significativas, entre machos y hembras, en el rendimiento a la canal. La ganancia por ternero cebado fue superior en las hembras que en los machos debido a que el precio de adquisición del kg vivo de las hembras fue inferior al de los machos y el precio de mercado del kg de canal de las hembras fue superior al de los machos. Como también puede inferirse de la Tabla 1 los costes de explotación (conservación y reparaciones, alimentación, mano de obra, higiosanitarios y varios), que constituyen el conjunto del capital circulante, tienen menos influencia sobre la ganancia que los precios de compra y venta del kg vivo y canal de ternero respectivamente, de manera que, en la Tabla 1, se han establecido funciones de costes, ingresos y ganancia (ingresos menos costes) dependientes de los precios de kg vivo del ternero en el momento de la compra (P_{ct}) y del kg canal a la hora de la venta (P_{vt})

Tabla 1. Resultados técnicos y costes de producción de machos y hembras.

Sexo de ternero	Macho	Hembra
Nº de animales	28	27
Peso inicial (kg)	228,3 ^a ± 3,4	219,1 ^b ± 2,9
Peso final (kg)	538,1 ^a ± 4,0	432,5 ^b ± 3,8
Duración media del cebo (días)	210 ^a ± 10	177 ^b ± 11
Consumo de pienso por ternero (kg)	1564	1092
Consumo de paja por ternero (kg)	241	142,9
Consumo de MS por ternero (kg)	1610,1	1099,04
Ganancia media diaria (kg)	1,475 ^a ± 0,098	1,205 ^b ± 0,084
Índice de trans (kg de MS/kg de ΔP)	5,20	5,16
Peso canal (kg)	301,3 ^a ± 3,8	240 ^b ,03 ± 3,2
Rendimiento comercial a la canal (%)	56,0 ± 0,8	55,5 ± 0,67
Mortalidad de terneros (%)	0	0
Nº de lotes teóricos de cebo al año	1,7	2,0
Precio del pienso (euros/kg)	0,21	0,21
Precio de la paja (euros/kg)	0,06	0,06
Precio mano de obra (euros/hora)	7,5	7,5
Tiempo por ternero y día (horas)	0,00455	0,00455
Precio compra (euros/kg de peso vivo)	2,81	2,40
Precio venta (euros/ kg de canal)	3,45	3,58
COSTES		
Amortización de alojamientos e instalac	10,98	9,33
Conservación y Reparaciones	4,94	4,20
Alimentación	342,9	237,9
Mano de obra	7,16	6,03
Higiosanitarios	9,2	9,2
Varios	12	12
Coste del ternero	641,52	525,84
Intereses de las instalaciones	5,76	4,9
Intereses del ternero	13,21	9,20
Intereses del capital circulante	3,87	2,35
TOTAL COSTES (C)	1051,54	820,95
FUNCIÓN DE COSTES	$C_m=232,9 * P_{ct}+396,8$	$C_h=222,9 * P_{ct}+285,9$
INGRESOS (I)		
Ternero	1039,48	859,31
Prima de sacrificio	38	38
TOTAL INGRESOS	1077,48	897,31
FUNCIÓN DE INGRESOS	$G=301,3. P_{vt} + 38$	$G=240,03. P_{vt}+38$
GANANCIA = I - C	25,94	76,36
FUNCIÓN DE GANANCIA	$GA=301,3 * P_{vt}-232,9. P_{ct}-$	$GA=240. P_{vt}-222,9 * P_{ct}-247,9$
	358,8	358,8

Medias con distintos superíndices difieren $P < 0,05$.

De los resultados de la Tabla 2 se infiere que para un precio de venta constante del kg canal, la ganancia se reduce en 23,3 euros por cada diez céntimos de euro de aumento del precio de adquisición del kg de peso vivo de ternero, mientras que para un precio constante del precio de compra del ternero la ganancia disminuye en 30,1 euros por cada diez céntimos de euro de reducción del precio de venta del kg canal. De los resultados de este ensayo descriptivo se concluye que, en la actualidad, es más interesante cebar hembras que machos en aquellas explotaciones que no cuenten con las subvenciones de pago único de la UE.

Tabla 2. Variación de la ganancia por ternero según el precio del kg vivo de ternero macho al comienzo del cebo (P_{ct}) y el precio de venta del kg canal (P_{vt}) en euros.

Pct	2,11	2,21	2,31	2,41	2,51	2,61	2,71	2,81	2,91	3,01
Pvt										
2,75	-21,9	-45,2	-68,5	-91,8	-115,1	-138,4	-161,7	-185,0	-208,3	-231,6
2,85	8,3	-15,0	-38,3	-61,6	-84,9	-108,2	-131,5	-154,8	-178,1	-201,4
2,95	38,4	15,1	-8,2	-31,5	-54,8	-78,1	-101,4	-124,7	-148,0	-171,3
3,05	68,5	45,2	21,9	-1,4	-24,7	-47,9	-71,3	-94,6	-117,9	-141,2
3,15	98,6	75,3	52,0	28,7	5,4	-17,8	-41,1	-64,4	-87,7	-111,0
3,25	128,8	105,5	82,2	58,9	35,6	12,3	-11,0	-34,3	-57,6	-80,9
3,35	158,9	135,6	112,3	89,0	65,7	42,4	19,1	-4,2	-27,5	-50,8
3,45	189,0	165,7	142,4	119,1	95,8	72,5	49,2	25,9	2,6	-20,6
3,55	219,2	195,9	172,6	149,3	126,0	102,7	79,4	56,1	32,8	9,5
3,65	249,3	226,0	202,7	179,4	156,1	132,8	109,5	86,2	62,9	39,6
3,75	279,4	256,1	232,8	209,5	186,2	162,9	139,6	116,3	93,0	69,7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, R., Serrano A. 1991. Los costes en los procesos de producción agraria. Ed Mundi Prensa, 147pp.
- Alonso R., Serrano A. 2004. Economía de la empresa agroalimentaria. Ed Mundi Prensa, 383 pp.

DESCRIPCIÓN DEL CRECIMIENTO EN UNA POBLACIÓN DE GALLINAS AUTÓCTONAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA: LA GALLINA DE CHULLILLA

A. Grimal y E.A. Gómez

Centro de Tecnología Animal. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.
Polígono La Esperanza 100. 12400 Segorbe. Castellón.

egomez@ivia.es

INTRODUCCIÓN

La gallina de Chullilla es una población objeto de estudio para su comparación con razas de gallinas ligeras de tipo mediterráneo de cara a dilucidar si la separación genética y/o morfológica ha sido suficiente para poder hablar de una nueva raza con criterios objetivables y no meramente político-culturales. Esta población procede de la comarca de Los Serranos en Valencia y, durante unos años, ha estado conservándose en dos ubicaciones (Mas de Noguera (Castellón) y El Teularet (Valencia)). Desde 2005, se mantiene una población en estudio en el Centro de Tecnología Animal de Segorbe (Castellón), generada a partir de 41 gallos y 41 gallinas, mayoritariamente de tipo ligero, pluma negra, gallos giros, con cresta sencilla y patas color pizarra con cuatro dedos, que ponen huevos blanco-rosáceos. En una primera fase, y por cuestiones de seguridad, se procedió a la multiplicación aleatoria de la población de cara a aumentar el número de efectivos. Ya en 1949, Castelló informa de que *“en Valencia abundaba la gallina blanca y negra, de tipo mediterráneo que bien seleccionada podría constituir una raza”*. En el año 2006 se inscribió la Asociación de criadores de razas de gallinas y palomas autóctonas valencianas (AVIVAL), promotora del conocimiento y reconocimiento de diferentes poblaciones autóctonas, entre ellas la Gallina de Chullilla.

Este trabajo tiene como objetivo conocer las pautas de crecimiento de esta población, que denominaremos 'de partida', tanto para conocer la magnitud del dimorfismo sexual como para poder definir un patrón actual de cara a su posible selección futura.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales se criaron en las instalaciones del CITA-IVIA en Segorbe (Castellón). La producción se organizó en familias de medios hermanos hijos de 20 machos, identificando en la primera semana de vida (2-3 días) a diferentes pollitos machos y hembras, nacidos desde febrero de 2006, correspondiendo a 12 lotes de incubación. Se pesaron semanalmente hasta las 13 semanas de edad (de acuerdo con Villaba *et al.*, 2005), quincenalmente hasta las 22 semanas y cada 4 semanas hasta las 32 semanas, con una última pesada a las 52 semanas (no incluida en este trabajo por número reducido de datos). Los 2831 registros de la base de datos procedían de 159 animales controlados (71 hembras y 88 machos) y 45 animales más de los que no se conocía el sexo (morían en las primeras 7 semanas de vida).

La cría-recría se realizaba en suelo, con yacija de serrín y con baja densidad animal, hasta las 13 semanas aproximadamente, pasando posteriormente a un alojamiento en batería. La alimentación fue *ad libitum*. Hasta las 6 semanas con un pienso de primera edad, las siguientes semanas un pienso de recría hasta la entrada en baterías en que empezaban a consumir pienso de ponedoras. No se han realizado controles de consumo, pero sí de crecimiento y de puesta.

Para describir el crecimiento se utilizaron las funciones matemáticas de mayor empleo en avicultura: Gompertz (parámetros **A**, **b** y **k**) y Laird (parámetros **k**, $W_0 = A \exp(b)$ y $L = b/k$), siendo ésta una modificación de la primera. En este trabajo preliminar sólo se ajustaron las curvas por sexos con un modelo sencillo de regresión no lineal con coeficientes no aleatorios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

(NOTA: para evitar reiteraciones, las posibles referencias a la raza Castellana Negra corresponden a Miguel (2003) y las de la raza Menorca a Villalba *et al.*(2005)).

Se presentan solamente los resultados con la expresión propuesta por Gompertz, siendo la magnitud de los parámetros de Laird *et al.* (1965) directamente calculables (Tabla 1). Las curvas de crecimiento se presentan en la Figura 1, con un coeficiente de determinación de 0,95 para datos de hembras y 0,97 para datos de machos.

El parámetro **A**, peso adulto estimado, presenta un claro dimorfismo sexual, con más de 650 g de diferencia, siendo las hembras un 28% inferiores en peso a los machos (en Castellana un 32% mientras que en Menorca esta diferencia sólo fue del 11%). Se observa que la Gallina de Chulilla es una población de formato ligero, con menores pesos que razas catalanas (Penedesenca Negra (Villalba *et al.*, 2001)), Menorca (2795 y 2466 g) o Castellana Negra (2851 y 1878 g).

El peso estimado en la primera semana de vida (**W₀**) fue inferior al registrado en la Menorquina (44,5 g) y mayor al de Castellana negra (37,4-38,5 g). Sin embargo, hay que evitar la comparación de valores estimados a partir de la curva puesto que los problemas de ajuste suelen aparecer en las primeras y en las últimas semanas. Los pesos promedio reales fueron de 39 y 41 gramos para hembras y machos respectivamente (frente a 46 y 41 g estimados). Con pesos registrados hasta 32 semanas, se tiende a sobrevalorar el peso adulto de los gallos y a infravalorar el de las hembras.

Los machos alcanzaban los 2 kg a una edad de 28 semanas, frente a 20 semanas en Menorquina o a 19 en Castellana Negra. Las hembras presentan un menor crecimiento relativo inicial (**L**=0,46), aunque en nuestro caso alcanzan el máximo de crecimiento antes de los machos (**t_i** = 9,9 semanas), y tienen una menor deceleración del crecimiento (**k** = 0,129), al contrario que ocurría en Aggrey (2002) donde el decrecimiento era mayor en los de menor **L**. Los valores de Castellana Negra fueron mayores tanto en **L** como en **k**.

El punto de inflexión se alcanzó en torno a las 10 semanas de vida, al igual que en las estimas de los machos de razas Menorca y Castellana, teniendo para las hembras de estas razas valores entre 8 y 9. Los pesos en ese punto para machos (848) y hembras (609) fueron ligeramente inferiores a los de Menorca (892 y 637) y Castellana Negra (983 y 664).

La Gallina de Chulilla es, por tanto, una población de gallina mediterránea ligera, con pesos adultos menores a los estimados para la Castellana Negra y Menorca. Dado su bajo peso actual, sería conveniente plantear una mejora del crecimiento, que conllevaría un aumento de peso adulto, más tiempo hasta el punto de inflexión y menor deceleración del crecimiento como indica Miguel (2003).

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado en el marco del proyecto RZ004-00040 del Subprograma de Conservación de Recursos Genéticos financiado con fondos FEDER. La financiación de la beca ha correspondido a la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Comunidad Valenciana y al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aggrey S.E., 2002. Comparison of three nonlinear and spline regression models for describing chicken growth curves. *Poultry Sci.* 81:1782-1788.

- Villaba D., Francesch A., Pons A., Bustamante J., Espadas M., Santonja V., Cubiló D., 2005. Caracterización del crecimiento en una población de gallinas de raza Menorca. ITEA Vol.Extra 26 (I):285-287.
- Villalba D., Cubiló M.D., Tor M., Solanes X., Molina E., Francesch A., Estany J., 2001. Diferencias de crecimiento entre dos líneas de gallinas de raza Penedesenca negra y un broiler. ITEA Vol.Extra 93-95.
- Miguel et al., 2005. Comparación de curvas de crecimiento de machos enteros, castrados y regenerados de la raza de gallinas Castellana Negra. ITEA Vol.Extra 26(I):279-281.
- Laird A.K., Tyler S.A., Barton A.D., 1965. Dynamics of normal growth. Growth, 29(3):233-248.
- Miguel J.A., 2003. Caracterización productiva y genética de una población de gallinas de raza Castellana negra. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.

Tabla 1.- Parámetros de crecimiento para la población completa y por sexo con la función de Gompertz (**A**, **b**, **k**), parámetros de Laird (**W₀** y **L**) y edad y peso en el punto de inflexión

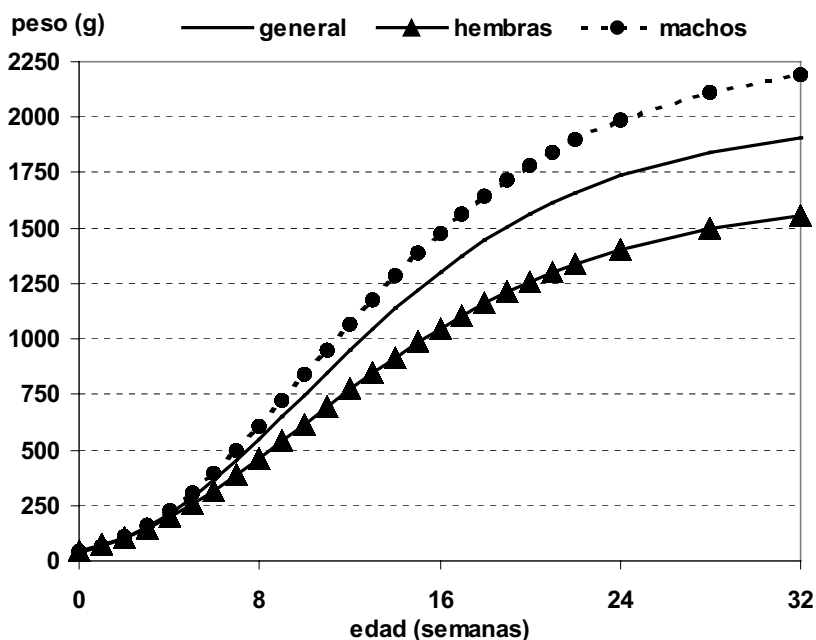
	N	A (e.e)	B (e.e)	K (e.e)	W₀	L	t_i	W_i	R²
Población	2817	2002 (23)	3,91 (0,077)	0,138 (0,0029)	40,1	0,54	9,9	738	0,97
Machos	1533	2300 (25)	4,02 (0,078)	0,138 (0,0028)	41,3	0,55	10,1	848	0,97
Hembras	1158	1648 (22)	3,57 (0,075)	0,129 (0,0032)	46,4	0,46	9,9	609	0,95

A = peso adulto, **b** = , **k** = máximo decrecimiento relativo tras el punto de inflexión

W₀ = peso inicial; **L** = máximo crecimiento relativo hasta el punto de inflexión

t_i = edad en el punto de inflexión; **W_i** = peso en el punto de inflexión

Figura 1. Curvas de crecimiento estimadas para machos, hembras y conjunto de la población



FACTORES QUE INCIDEN EN LA INCUBABILIDAD DE UNA POBLACIÓN AUTÓCTONA: LA GALLINA DE CHULLILLA

Grimal, A., Gómez, E.A.

Centro de Tecnología Animal (CITA). Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.
Polígono La Esperanza, 100. 12400 Segorbe. Castellón.

e-mail: agrimal@ivia.es

INTRODUCCIÓN

La Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Comunidad Valenciana se planteó la recuperación y conservación de una población de gallinas originarias de la localidad de Chullilla en la comarca de la Serranía en Valencia. Se procedió a su cría en dos localizaciones subvencionadas (El Teularet (Valencia) y El Mas de Noguera (Castellón)). Ambas partieron de huevos fecundados de la población base suministrados por un particular (A. Alcaide), que fueron incubados con el fin de generar poblaciones para su conservación *in situ*. En julio de 2005 llegó a las instalaciones del Centro de Tecnología Animal de Segorbe una población procedente de El Teularet, compuesta por 41 hembras y 41 machos. De ellos se desconocía tanto su edad exacta, si bien parte de ella eran animales envejecidos, como el grado de parentesco entre los mismos al ignorarse las genealogías. Únicamente se disponía de datos orientativos, poco alentadores, de las características reproductivas, con valores muy bajos de fertilidad, de incubabilidad y de supervivencia de los pollitos tras el nacimiento.

Durante una primera fase de urgencia, se procedió a la multiplicación y rejuvenecimiento de la población mediante apareamientos al azar. Se procedió a incubar todos los huevos sin restricciones de peso ni tamaño, con 6 lotes de incubación. Una vez contrastada la capacidad de reproducción de la misma (Grimal y Gómez, 2006), y al disponer de un número suficiente de individuos como para no perder la población, se decidió pasar a una siguiente fase, incubando nidadas en grupos de medios hermanos para disponer, al menos, de la genealogía paterna. En el presente trabajo se analizan factores que han podido afectar a la incubabilidad, como son el peso y el intervalo entre la puesta y el comienzo de la incubación.

MATERIAL Y MÉTODOS

De un total de 41 hembras llegadas al centro, se seleccionaron 30 por ajustarse al patrón morfológico inicialmente propuesto para la Gallina de Chullilla. Se constituyeron dos grupos de madres (Sala 1 y Sala 2) con 15 hembras cada uno, sin ser reemplazadas en el caso de causar baja. Con estas hembras se realizaron lotes de incubación, introduciendo dos gallos diferentes por lote. Para no alargar el período entre lotes, se organizaron las incubaciones para obtener lotes cada 4 semanas. Debido a la capacidad de las gallinas para almacenar el semen de un gallo más de una semana, se planificó la entrada-salida de machos y la recogida de huevos de manera que hubiesen pasado 3 semanas desde que se empezaba a recoger los huevos perteneciente a un macho y se había retirado el anterior.

Los huevos se recogían diariamente, se pesaban, se identificaban y se almacenaban, sin realizar desinfección, en una cámara. Se desecharon huevos por debajo de 50 g y no se desecharon por pesos altos. Se rechazaron aquellos huevos con fisuras en la cáscara, deformes o muy sucios. El período de recogida de huevos era de 14 días, no estando presente el gallo en la segunda semana de recogida.

Se incubaron un total de 1418 huevos, con fechas de puesta comprendidas entre enero y diciembre de 2006, habiendo periodos de 2 semanas desde que se empezaba a incubar un lote hasta que se recogían los huevos del siguiente lote. Los nacimientos tuvieron lugar entre febrero de 2006 y enero de 2007. Fueron 24 los machos utilizados en la experiencia.

Tras el nacimiento de cada nidada, se procedía a la embriodiagnosia de los huevos no eclosionados de acuerdo a las indicaciones de Ricaurte (2005), para determinar la fertilidad y en cuál de los periodos críticos se había producido la muerte embrionaria,

diferenciando 3 estadios: Fase 1: embrión, hasta el día 5, Fase 2: embrión con plumón hasta el día 17 y Fase 3: final de incubación.

Para el análisis de la fertilidad y la incubabilidad se utilizó un modelo mixto teniendo en consideración como efecto fijo de clasificación la sala y como efecto aleatorio la interacción entre macho y sala. Se incluyeron como variables continuas el peso y el tiempo desde la puesta a la incubación (en ambos casos se incluyó un término lineal y un término cuadrático). Se consideró la distribución binomial de los datos. Para el análisis de la variable estado de desarrollo que alcanza el embrión se utilizó el mismo modelo, pero considerando que la variable independiente se distribuía normalmente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan resultados globales de fertilidad, incubabilidad y descomposición de las pérdidas embrionarias. De los huevos puestos a incubar, solamente se clasificaron como fértiles el 67 %, siendo el porcentaje de pollitos nacidos sobre huevos a incubar del 48%. El 58,5% de los huevos fértiles que no nacieron alcanzaron la fase 3, mientras que los que no superaron la fase 1 fueron el 24,7%. Según Ricaurte (2005), la mortalidad embrionaria en el primer estadio sería de un 30% y la del tercero un 50%. Las causas posibles de la mortalidad en los primeros días se relacionan con el manejo del huevo (golpes, temperatura y período de conservación). El período más crítico es al final de la incubación, al comenzar la respiración pulmonar, y se relaciona con problemas de transferencia a las nacedoras o problemas con el nivel de oxígeno y humedad.

El peso medio de los huevos a incubar fue de 60,9 g (d.e. 4,8), con un mínimo de 50 y un máximo de 81 gramos (el 99% de los huevos entre 52 y 72 gramos). Toro (1995) recomienda que el peso de los huevos a incubar oscile entre los 50-70 g, puesto que huevos más pequeños penalizan la supervivencia del pollito al nacimiento y huevos demasiado grandes presentan problemas de incubabilidad, además de ser un problema a la hora de colocarlos en la bandeja de incubación.

Los huevos eran almacenados durante un período largo, el 71% durante 5 o más días y el 36% 10 o más días, con un máximo de 14 días. Para Abad et al. (2003), no parece recomendable alargar el intervalo entre la puesta y la incubación, si bien los huevos se pueden conservar hasta 14 días sin riesgo de una merma elevada de fertilidad. Como hemos indicado, no conocíamos con certeza la edad de las gallinas, aunque algunas tenían más de 4 años de edad. Se conoce que hay una disminución de la fertilidad e incubabilidad con la edad (Fasenko et al., 1992), al aumentar el número de huevos primeros con series de puesta más cortas.

Tabla 1. Valores globales de fertilidad e incubabilidad y descomposición de la mortalidad embrionaria por fases de desarrollo del embrión

Huevos incubados	1418
Huevos fértiles	952
Fertilidad (%)	67,1
Pollitos nacidos	687
Nacidos sobre huevos incubados (%)	48,4
Incubabilidad (% de nacidos sobre huevos fértiles)	72,2
Mortalidad embrionaria (% sobre huevos fértiles)	
Fase 1	6,8
Fase 2	4,6
Fase 3	16,1

Respecto a los días desde la puesta, la fertilidad varió entre 75% para los incubados desde el mismo día de la puesta y 56,5% para los incubados a 14 días. Según pesos, la fertilidad varió entre el 50 y el 92%. En el análisis de la fertilidad sólo apareció como significativo el peso del huevo, tanto en su componente lineal como cuadrática (con un máximo de fertilidad en torno a 61 g), no apreciándose diferencias de fertilidad entre salas y no siendo significativo el efecto de días desde la puesta.

Al analizar los nacimientos sobre huevos totales, tampoco aparecía efecto sala. Sin embargo, había un efecto tanto del peso (componente lineal y cuadrática) como de días

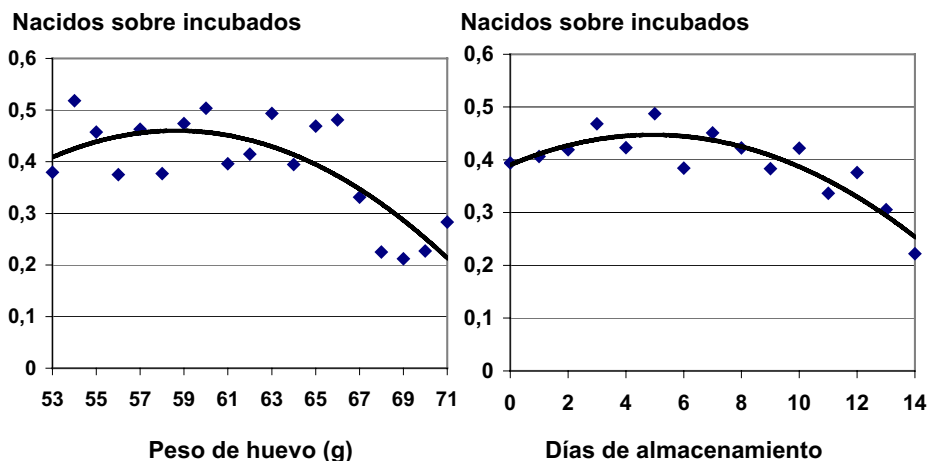
desde la puesta (componentes lineal y cuadrática). Se obtendría un óptimo para pesos cercanos a 59 g y un número de días desde la puesta próximo a 5 (ver Figura 1). Si consideráramos sólo los huevos fértiles, la incubabilidad solo parecía dependiente de los días desde incubación a puesta (componente cuadrática) con un máximo en torno a los 4 días.

Para un mayor desarrollo embrionario, hubo también efecto del peso del huevo (lineal y cuadrático) y del tiempo hasta la incubación, estando el óptimo de desarrollo en pesos cercanos a 60 g y 5 días desde la puesta al comienzo de la incubación. Si consideráramos sólo huevos fértiles, no se observó efecto ni del peso del huevo ni de días de almacenamiento sobre el estadio de desarrollo alcanzado.

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 financiación por parte de FEDER-INIA con el proyecto de investigación RZ2004-00040 del Subprograma de Conservación de Recursos Genéticos.

Figura 1. Pollos nacidos sobre huevos incubados en función de peso de huevo y de días entre la puesta y la entrada en incubadora



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, J.C., Castelló, J.A., Carbajo, E., Casanovas, P., Dalmau, A., García, E., Lera R. Y R. Martínez-Alesón. 2003. Reproducción e Incubación en Avicultura. Ed. Real Escuela de Avicultura.
- Fasenko, G.M., Hardin, R.T., Robinson, F.E., Wilson, J.L., 1992. Relationship of hen age and egg sequence position with fertility, hatchability, viability and preincubation embryonic development in broiler breeders. *Poultry Science*, 71(8):1374-1383.
- Grimal, A., Gómez, E.A. 2006a. Descripción y caracterización de una población de la Comunidad Valenciana: "la Gallina de Chulilla, V Congr. Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales.
- Grimal, A., Gómez, E.A. 2006b. Caracterización preliminar de parámetros reproductivos en la Gallina de Chulilla. V Congr. Ibérico sobre Recursos Genéticos Animales.
- Ricaurte, S.L., 2005. Embriodiagnos y ovoscopia. Análisis y control de calidad de los huevos incubables. *Redvet Vol. VI, Nº3*.
- Toro, C. 1995. El huevo fértil y la incubación. En Buxadé, C.: *Zootecnia, bases de la producción animal. Tomo V: Avicultura clásica y complementaria*. Ed. MundiPrensa.

RESULTADOS PRELIMINARES DE LA CARACTERIZACIÓN DEL MANEJO DE LAS EXPLOTACIONES DE BROILERS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

Martínez M.^{1,2}, Marín C.¹, Estellés F.³, Torres A.³, Láinez M.¹

1 CITA, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Segorbe.Castellón.
Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana.

2 Departamento Técnico TRAGSEGA. Valencia.

3 Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica Valencia.
(lainez_man@gva.es)

INTRODUCCIÓN

La avicultura de carne supuso, en 2005, un valor corriente a precios básicos de 1531,8 millones de euros, de acuerdo con las estimaciones del MAPA (2006). Esto representa un 3,7% de la PFA, según esa misma fuente, y un 10,8% de la producción ganadera. En la Comunidad Valenciana su contribución al conjunto de la actividad ganadera es superior. Pero, sobre todo, tiene una especial significación en determinadas comarcas de interior de las provincias de Castellón y Valencia (Soutullo *et al.*, 1999), en las que genera actividad productiva y contribuye de forma significativa a la generación de rentas.

Hace 10 años se realizó un estudio de la caracterización de este sector productivo en esta Comunidad autónoma (Tenes *et al.*, 1999; Soutullo *et al.*, 1999). Desde ese momento se han producido importantes cambios en las condiciones de producción y manejo de las explotaciones. A la vez, se ha concentrado la actividad en un menor número de granjas y de productores. En 1998 el sector contaba con 748 granjas, con una capacidad productiva de 12,7 millones de plazas, mientras que en 2006, en el momento de realizar la encuesta existían 564 explotaciones, con una capacidad de 14.199.258 plazas (REGA CV, 2005)

En este contexto de cambio, se plantea la realización de este trabajo cuyo objetivo básico es conocer el sector de la producción de carne de ave en la Comunidad Valenciana, en los distintos aspectos relacionados con la infraestructura, la mano de obra, la tecnología productiva, la bioseguridad y los resultados técnicos. Todo ello, con objeto de realizar propuestas de adaptación y mejora, así como programas de formación y actualización en su caso. Esta comunicación recoge aspectos relacionados con los sistemas de manejo e incorporación tecnológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos partido de una relación de todas las explotaciones de pollos de la Comunidad Valenciana, remitida por el Área de Ganadería de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación en julio de 2005. Considerando el conjunto de datos que se pretendían obtener, un nivel de confianza del 95% y una precisión media en la estima de los parámetros más representativos de una explotación avícola de carne del 5%, se fijó el número de encuestas a realizar en 204. Posteriormente, se procedió a realizar una selección aleatoria de ese número de explotaciones entre todas las existentes.

Considerando la información de estudios previos (Tenes *et al.*, 1999; Soutullo *et al.*, 1999), se elaboró un borrador de cuestionario, que fue sometido a la opinión de investigadores y técnicos del sector. Una vez corregido, se procedió a testarlo en granjas para elaborar el protocolo de obtención de datos definitivo. Entre los meses de septiembre de 2005 y septiembre de 2006 se ha procedido a realizar una encuesta individualizada a los titulares de las explotaciones seleccionadas. Siempre ha sido ejecutada por la misma persona. Una vez acabado el trabajo de campo, se han visitado 201 explotaciones avícolas de carne de las 204 previstas.

La información obtenida ha sido filtrada y se le han aplicado controles de coherencia, para obtener los datos con los que se trabajaría posteriormente. Cada variable ha sido sometida a un análisis descriptivo univariante estudiando, según tipos, su media y sus parámetros de dispersión y frecuencias.

Para la realización de los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico SAS® (1998), empleándose los procedimientos de análisis descriptivos (variables cuantitativas) y tablas de frecuencia (variables discretas y de categorías), PROC MEANS y PROC FREQ, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

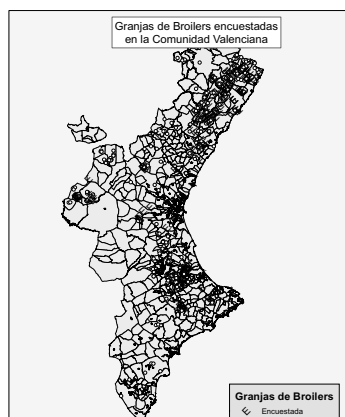


Figura 1. Localización de las granjas de aves de carne encuestadas

Las explotaciones encuestadas representan un total de 4.796.200 plazas de engorde de pollos, que equivale al 33,8% de la capacidad productiva recogida en el REGA CV (2005). La distribución provincial de las granjas visitadas ha sido del 7% en Alicante, 61,2% en Castellón y 31,8% en Valencia, que refleja la ubicación real de las explotaciones avícolas en las tres provincias: 4,76%, 59,52% y 35,71%, respectivamente. En la **Figura 1** se muestran, sobre un mapa, utilizando la herramienta SIG ArcMap™ 9.1 (ESRI, 2005), la situación de las granjas visitadas para la obtención de la información, en relación con las explotaciones existentes.

De estas explotaciones encuestadas, el 48,77% de ellas permiten alojar entre 12.000 y 20.000 broilers, mientras que el 25,96% tienen una capacidad productiva superior a 20.000 aves por crianza; el resto, un 25,26%, no alcanza las 12.000 plazas.

El trabajo en las granjas se inicia con la entrada de los pollitos con 1,02 días (CV = 0,23). Se mantendrán hasta el día de salida de los pollos que es como media de 48,93 días (CV = 0,04), con mínimos de 42 días y máximos de 55 días. No obstante estos datos varían con los pesos de salida que dependen del sexo y la época del año: en invierno los machos salen con 2,89 kg (CV = 0,08) y las hembras con 2,53 (CV = 0,10), mientras que en verano lo hacen con 2,67 (CV = 0,08) los machos y 2,34 (CV = 0,09) las hembras.

Durante la estancia de las aves en la granja las tareas más importantes son la alimentación y el control ambiental. En la **Tabla 1** presentamos, distribuidos por estratos de tamaño, el porcentaje de granjas que han incorporado un manejo automatizado de la distribución de pienso, del control de la iluminación, la calefacción y la ventilación en la crianza de pollos. Incluimos también otros aspectos relacionados con el manejo, como son la crianza separada por sexos, la realización de clareo y la limpieza y desinfección.

La gran mayoría de las explotaciones han incorporado automatismos en la distribución del pienso (96,89%), con independencia de su capacidad. Sin embargo, el número de piensos manejados a lo largo de la crianza varía con el tamaño de la explotación. Así, las explotaciones más pequeñas, utilizan mayoritariamente tres piensos, mientras que las grandes tienden a utilizar más de tres piensos. Ninguna explotación de menos de 12.000 animales utiliza cinco piensos durante toda la fase de engorde.

La incorporación de tecnologías que permitan una automatización de los sistemas de iluminación y del mantenimiento de la temperatura preestablecida en el interior de las naves aumenta claramente en función del tamaño de la explotación. No obstante, sorprende cómo quedan todavía naves con una capacidad elevada en el que estas el control de las horas de luz se realiza manualmente (28% de las naves visitadas); en el caso de la calefacción la cifra se eleva al 42%. El empleo de autómatas programables, capaces de controlar las condiciones ambientales en el interior de las naves, para uno o varios parámetros, se sitúa a niveles por debajo de lo esperable (37% en el conjunto de las instalaciones encuestadas)

El manejo separado por sexos, que se va imponiendo en este sector, también comporta un incremento del trabajo en granja. En nuestra muestra esta práctica es habitual en el 45,07% de las granjas; este porcentaje aumenta con la capacidad de la granja, como podemos ver en la Tabla 1.

Otra de las actividades frecuentes es la realización del clareo, que es habitual en el 43,97% de las naveas visitadas y ocasional en el 30,50% de ellas. De nuevo, las instalaciones con más capacidad realizan esta práctica con más frecuencia. El porcentaje de aves que se sacan en ese momento es del 28,60 % de las aves que entraron, aunque con una gran variabilidad (CV = 0,46). Los mismos resultados encontramos en el peso al clareo, con 2,55 kg (CV = 1,32). Sin embargo, el momento de realizarlo arroja una media de 38,2 días y un CV de 0,06.

Una vez que salen las aves con destino al matadero los productores deben retirar la yacija, limpiar y desinfectar, preparando la nave para la siguiente crianza. Sorprende el resultado presentado en la Tabla 1, donde encontramos un 12,94 % de las granjas que no limpian después de eliminar la cama. Además, esta situación la hemos encontrado en todos los grupos de tamaño. Sin duda, en estas explotaciones la eficacia de los desinfectantes, que se emplean en el 100% de las granjas consultadas, será bastante limitada,

consolidándose los ciclos de transmisión de enfermedades entre lotes.

Los datos muestran que en las explotaciones de producción de carne de la Comunidad Valenciana todavía es posible una mejora tecnológica, en todos los estratos de capacidad.

Tabla 1. Incorporación de tecnología en función del tamaño

	<12.000 aves	12.000-20.000 aves	>20.000 aves
Distribuyen automáticamente el pienso	96,15%	97,9%	94,64%
Nº de piensos			
2 piensos	4,44%	2,53%	0%
3 piensos	60%	58,86%	47,22%
4 piensos	35,56%	33,54%	45,83%
5 piensos	0%	5,06%	6,94%
Iluminación automatizada	56,41%	72,15%	80,3%
Calefacción automática	31,37%	58,12%	77,97%
Utilización de autómatas	12,31%	47,06%	67,14%
Reciben pollos sexados	31,11%	47,59%	47,95%
Realización de clareo habitual	22,73%	37,35%	72,22%
Realización de limpieza	77,78%	89,22%	87,84%
Realización de desinfección	100%	100%	100%

BIBLIOGRAFÍA

- ESRI (2005). ArcMap v. 9.1. Environmental Systems Research Institute, Inc.
- MAPA (2.006). <http://www.mapa.es/app/SCH/indicadores/IndicadoresCA.aspx?lng=es>. (Consultado 11-02-2007)
- REGA CV, 2005. Registro de Explotaciones Ganaderas de la Comunidad Valenciana, 2006. Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.

SAS (1998) SAS User's Guide: Statistics, version 6.12. SAS Inst. Inc. Cary, NC.

Soutullo, H., Izquierdo, M.D., Tenes, L., Láinez, M., Torres, A., Fernández, N., 1999. Estudio previo de caracterización de las explotaciones de pollo carne de la Comunidad Valenciana; ITEA, vol. extra, 20, nº 2, 729-731.

Tenes, L., Soutullo, H., Izquierdo, M.D., Láinez, M., Torres, A., Fernández, N., 1999. Resultados preliminares sobre la tipología de las explotaciones de pollo de carne de la Comunidad Valenciana; ITEA, vol. extra, 20, nº 2, 732-734.

ESTRATEGIAS NUTRICIONALES PARA LA PRODUCCIÓN DE CERDO IBÉRICO EN RÉGIMEN INTENSIVO

Serrano, M.P.¹, Valencia, D.G.¹, Fuentetaja, A.², Lázaro, R.¹, Mateos, G.G.¹

¹Departamento de Producción Animal, UPM, Senda del Rey, s/n; 28040. Madrid.
gonzalo.gmateos@upm.es

²COPESE S.A., Conde de Sepúlveda, 24; 40300. Sepúlveda, Segovia.

INTRODUCCIÓN

El Real Decreto 1083/01 (BOE, 2001) establece la normativa que regula la calidad del jamón Ibérico, la paleta Ibérica y la caña de lomo Ibérico elaborados en España. La normativa recoge los factores determinantes de la calidad tales como la raza (Ibéricos puros y cruces con líneas paternas Duroc), la alimentación (bellota, recebo y cebo) y la edad (manejo). Para el caso concreto de cerdos Ibéricos de cebo (alimentados únicamente con pienso), la edad mínima al sacrificio debe ser de 10 meses. Un cruce de Ibérico x Duroc entrado a cebo con 25 kg y unos 80 d de vida, a los 10 meses de edad pesará al menos 180 kg. Pesos al sacrificio tan elevados dan lugar a un deterioro de la conversión alimenticia, sobreengrasamiento que conlleva una prolongación del periodo de curado, piezas de tamaño excesivo y reducción del rendimiento en partes nobles (Serrano *et al.* 2004). Dada la necesidad de encontrar estrategias nutricionales a fin de cumplir con la edad mínima requerida por la normativa para cerdos Ibéricos sin exceder el peso al sacrificio, se plantea el presente trabajo cuyo objetivo fue estudiar la influencia de la concentración energética de los piensos y la restricción de la alimentación en hembras enteras (HE), hembras castradas (HC) y machos castrados (MC) Retinto Ibérico x Duroc Danés en intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el ensayo 1 se utilizaron 192 cerdos Retinto Ibérico x Duroc Danés (Danbreed) de 30 ± 4,9 kg y 97 ± 11,1 d de edad al inicio de la prueba. Se utilizó un diseño factorial con tres niveles de EN en crecimiento (29 a 80 kg) y cebo (80 a 110 kg) (bajo: 2.040 y 2.175 kcal/kg; medio: 2.175 y 2.305 kcal/kg y alto: 2.305 y 2.435 kcal/kg, respectivamente) y dos sexos (HC y MC). En ambos periodos experimentales todas las dietas se formularon para tener el mismo valor nutricional por kcal de EN. En la fase de finalización (110 a 145 kg) todos los cerdos recibieron un pienso común con 2.480 kcal EN/kg. Cada tratamiento se replicó ocho veces y la unidad experimental estuvo constituida por cuatro cerdos alojados conjuntamente. Para el estudio de calidad de canal y de carne hubo 32 réplicas por tratamiento y la unidad experimental fue el cerdo.

En el ensayo 2 se utilizaron 160 cerdos Retinto Ibérico x Duroc Danés (Danbreed) de 42 ± 2,5 kg y 120 ± 5,3 d de edad al inicio de la prueba. Se utilizó un diseño factorial con dos niveles de alimentación (*ad libitum* vs. restringidos al 17% y al 28% del consumo *ad libitum* de 42 a 72 y de 72 a 112 kg, respectivamente) y tres sexos (HE, HC y MC). Cada tratamiento se replicó cuatro veces y la unidad experimental estuvo constituida por siete cerdos alojados conjuntamente. Para el estudio de calidad de canal y carne hubo 28 réplicas por tratamiento y la unidad experimental fue el cerdo.

En ambos ensayos se controlaron la productividad (crecimiento, consumo de pienso y eficiencia alimenticia) y la calidad de la canal (rendimiento, espesor de grasa a nivel P₂ entre la tercera y la cuarta últimas costillas y a nivel del m. *Gluteus medius* y rendimiento de jamones, paletas y lomos) y del m. *Longissimus dorsi* (color y composición química).

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS Institute, 1990) para diseños al azar organizados de forma factorial. En el modelo se incluyeron los efectos principales nivel de energía y sexo (ensayo 1) y nivel de alimentación y sexo (ensayo 2) y las posibles interacciones entre los efectos principales de cada ensayo. Para la separación de medias se llevó a cabo el test de comparaciones múltiples de Duncan. Para los parámetros de la canal se usó el peso al sacrificio como covariable. Los datos se presentan en tablas como medias corregidas por mínimos cuadrados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del nivel de energía de los piensos de crecimiento y cebo

Al disminuir la concentración energética de los piensos de crecimiento y cebo, aumentó el consumo de pienso (3.342 vs. 3.248 vs. 3.271 g/d; $P < 0,05$ para los piensos con niveles de energía bajo, medio y alto, respectivamente) y tendió a empeorar la eficiencia alimenticia (3,97 vs. 3,90 vs. 3,81 g/g; $P < 0,10$ para los piensos con niveles de energía bajo, medio y alto, respectivamente) de acuerdo con Coffey *et al.* (1982) y De La Lata *et al.* (2001). La estrategia de nuestro ensayo de reducir la concentración energética hasta un 12% para ralentizar el crecimiento de los cerdos no es aconsejable en cruces de Ibérico x Duroc debido a que dada su gran capacidad de ingestión pueden cubrir sus necesidades energéticas con un incremento del consumo de alimento en la misma proporción. Sin embargo, no hemos encontrado ningún trabajo que estudie la influencia de la concentración energética de la dieta en cruces de Ibérico x Duroc en intensivo que nos permita cotejar nuestros resultados. No se observó ningún efecto del nivel de energía sobre los parámetros de calidad de la canal estudiados ($P > 0,05$) de acuerdo con los resultados de Tembei *et al.* (2001) y de Zeng *et al.* (2002) en cerdo blanco. En nuestro ensayo los cerdos que consumieron los piensos de mayor energía no crecieron más que los cerdos que consumieron los piensos con niveles de energía inferiores por lo que no cabía esperar un mayor grado de engrasamiento de la canal. Asimismo el nivel de energía no influyó sobre los parámetros de calidad de carne analizados lo que podría ser debido a que en nuestro ensayo se suministró un pienso isoenergético a partir de los 110 kg de peso lo que sin duda redujo la influencia de los niveles de energía de las dietas previas sobre la calidad de la carne.

Efecto de la restricción alimenticia

Los cerdos restringidos crecieron un 23% menos en el periodo global de restricción de 42 a 112 kg (551 vs. 720 g/d; $P < 0,001$) que los cerdos alimentados *ad libitum*, sin que se viera afectada la conversión alimenticia. Resultados similares han sido observados por otros autores en cerdo blanco graso (Donker *et al.* 1986; Oksbjerg *et al.* 2002). En el periodo de finalización (de 112 a 152 kg) con alimentación *ad libitum*, los cerdos que previamente habían estado restringidos comieron más (3.714 vs. 3.390 g/d; $P < 0,05$), crecieron más (822 vs. 655 g/d; $P < 0,001$) y convirtieron mejor (4,54 vs. 5,23 g/g; $P < 0,01$) que los alimentados *ad libitum*. Otros autores también han observado crecimientos compensatorios similares en cerdo blanco graso (Donker *et al.* 1986; Oksbjerg *et al.* 2002) y en cerdo Ibérico (Tirapicos, 1999). En el global de la prueba, los cerdos que habían estado restringidos hasta los 112 kg comieron y crecieron menos ($P < 0,01$) que los que consumieron pienso *ad libitum* durante toda la prueba de acuerdo con los resultados de Donker *et al.* (1986) y Daza *et al.* (2003). Los cerdos alimentados *ad libitum* durante toda la prueba presentaron mayor rendimiento de la canal (81,0 vs. 80,1%; $P < 0,001$) y más grasa a nivel P_2 (59,8 vs. 52,8 mm; $P < 0,001$) y a la altura del *m. Gluteus medius* (49,7 vs. 43,2 mm; $P < 0,001$) que los cerdos restringidos. Los animales restringidos presentaron mayor rendimiento de partes nobles a 6 y 24 h *post mortem* y tras el perfilado ($P < 0,05$) que los cerdos alimentados *ad libitum*. Esta mejora en el rendimiento de partes nobles pudo deberse a que al disminuir el contenido de grasa de la canal se incrementa el contenido de magro y por ende, el rendimiento en partes nobles. El nivel de alimentación no influyó sobre los parámetros de calidad de carne analizados lo que podría ser debido a que todos los cerdos fueron alimentados *ad libitum* desde los 112 kg hasta el momento del sacrificio, lo que habría podido diluir el efecto de la restricción sobre la calidad de la carne.

Efecto del sexo

Machos castrados y HC (CAS) se comportaron de forma similar de acuerdo con Mayoral *et al.* (1999) y Peinado *et al.* (2002, 2003 y 2007) en el ensayo 2. Sin embargo, en el ensayo 1, los MC crecieron más (870 vs. 821 g/d; $P < 0,01$) y consumieron más pienso (3.367 vs. 3.207 g/d; $P < 0,001$) que las HC de 29 a 145 kg. Las HE tendieron a comer menos que los

cerdos CAS (2.762 vs. 2.871 g/d; $P < 0,10$) de 42 a 152 kg de acuerdo con Serrano *et al.* (2004 y 2005 a y b) en cruces de cerdo Ibérico x Duroc en intensivo. En el ensayo 1, los MC presentaron un 4% más de rendimiento de paleta (11,0 vs. 10,6 %; $P < 0,001$) y un 1,5% más de rendimiento en partes nobles (32,3 vs. 31,8%; $P < 0,05$) que las HC. Las HE tendieron a presentar canales con menor rendimiento (80,2 vs. 80,7%; $P < 0,10$) y menos grasa a nivel P_2 (51,7 vs. 58,6 mm; $P < 0,01$) y a la altura del m. *Gluteus medius* (40,9 vs. 49,3 mm; $P < 0,001$) que los cerdos CAS, resultados similares a los observados por Serrano *et al.* (2004 y 2005a). En general, los CAS presentan mayor espesor de la grasa dorsal a nivel P_2 (Weatherup *et al.* 1998; Serrano *et al.* 2005a) y a la altura del m. *Gluteus medius* (Latorre *et al.* 2004; Serrano *et al.* 2005a) que las HE. Asimismo, las HE presentaron mayor rendimiento de partes nobles perfiladas y de lomo ($P < 0,01$) que los CAS de acuerdo con Serrano *et al.* (2004 y 2005a y b) en cerdos Retinto Ibérico x Duroc Danés alimentados con pienso. En el ensayo 2, la carne de las hembras enteras tuvo menos grasa intramuscular ($P < 0,001$) y más proteína (21,7 vs. 21,1%; $P < 0,05$) que la carne de los CAS sin que se detectaran diferencias para el color.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boletín Oficial del Estado. 2001. Boletín Oficial del Estado, 247, 37830-37833.
- Daza, A., Rodríguez, I., Ovejero, I., López-Bote, C.J. 2003. Spanish Journal of Agricultural Research, 1 (4), 3-8.
- De la Llata, M., Dritz, S.S., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Nelssen, J.L., Loughin, T.M. 2001. Journal of Animal Science, 79, 2643-2650.
- Donker, R.A., Den Hartog, L.A., Brascamp, E.W., Merks, J.W.M., Noordewier, G.J., Buiting, G.A.J. 1986. Livestock Production Science, 15, 353-365.
- Latorre, M.A., Lázaro, R., Valencia, D.G., Medel, P., Mateos, G.G. 2004. Journal of Animal Science, 82, 526-533.
- Mayoral, A.I., Dorado, M., Guillén, M.T., Robina, A., Vivo, J.M., Vázquez, C., Ruiz, J. 1999. Meat Science, 52, 315-324.
- Oksbjerg, N., Sorensen, M.T., Vestergaard, M. 2002. Acta Agriculturae Scandinavica, 52 (2), 85-90.
- Peinado, J., Fuentetaja, A., Latorre, M. A., Mateos, G. G., Medel, P. 2002. Journal of Animal Science, 81 (1), 200.
- Peinado, J., Fuentetaja, A., Sánchez, J., Mateos, G. G., Medel, P. 2003. Journal of Animal Science, 82 (1), 135.
- Peinado, J., Medel, P., Fuentetaja, A., Mateos, G.G. 2007. Journal of Animal Science. (Submitted).
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Lázaro, R., Viguera, J., Nieto, M., Mateos, G. G. 2004. Journal of Animal Science, 82 (1), 13.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Lázaro, R., Fuentetaja, A., Mateos, G. G. 2005a. Journal of Animal Science, 83(1), 158.
- Serrano, M. P., Valencia, D. G., Lázaro, R., Nieto, M., Mateos, G. G. 2005b. Journal of Animal Science, 83 (1), 240.
- Statistical Analysis Systems Institute. 1990. SAS user's guide: statistics. Version 6, 4th edition. Cary, NC: SAS Institute, Inc, USA.
- Tembei, J.N., Libal, G.W., Hamilton, C.R., Peters, D.N. 2001. Swine, 13, 72-78.
- Tirapicos, J. 1999. En: I Jornadas sobre el cerdo Ibérico y sus productos. Junta de Castilla y León. Conserjería de Agricultura y Ganadería. Guijuelo. Salamanca, pp. 26-40.
- Weatherup, R.N., Beattie, V.E., Moss, B.W., Kilpatrick, D.J., Walker, N. 1998. Animal Science, 67, 591-600.
- Zeng, X.Y., Turkstra, J.A., Jongbloed, A.W., van Diepen, J. Th.M., Meloen, R.H., Oonk, H.B., Guo, D.Z., van de Wiel, D.F.M. 2002. Livestock Production Science, 77, 1-11.

CALIDAD AMBIENTAL EN ALOJAMIENTOS PORCINOS DE NAVARRA: REPERCUSIONES SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL

Aguilar M., Eguinoa P., Maeztu F.A.

Instituto Técnico y de Gestión Ganadero, S.A. Avda. Serapio Huici, 22. Edificio Peritos.
31610-Villava (www.itgganadero.com). E-mail: maguilar@itgganadero.com

INTRODUCCIÓN

La intensificación de la explotación porcina acontecida durante las últimas décadas ha conllevado que el ambiente de los alojamientos adquiera un gran protagonismo en el bienestar animal. En el interior de las explotaciones la salud animal puede verse afectada por la presencia de polvo orgánico y de gases nocivos como el amoníaco (NH₃) y el sulfhídrico (SH₂) emitidos durante la biodegradación de los purines y el dióxido de carbono (CO₂) producto de la respiración. La presencia de contaminantes aéreos está condicionada por numerosos factores relacionados con el diseño de la explotación, la carga ganadera, los sistemas de ventilación y de recogida y evacuación de los purines (Quiles *et al.*, 2004). Asimismo, factores ambientales como la temperatura y la humedad relativa influyen no sólo sobre la producción y emisión de estos contaminantes, sino también directamente sobre los rendimientos zootécnicos, especialmente a través de la regulación del comportamiento alimentario (De la Torre *et al.*, 2003; Groot *et al.*, 1998, Hartung *et al.*, 1994; Massabie, 2000). Es decir, unas condiciones ambientales adversas pueden ocasionar situaciones estresantes en los cerdos que experimentan una serie de cambios etológicos y fisiológicos para hacerles frente, que sin duda tendrán una repercusión negativa en los parámetros de crecimiento y reproductivos.

La normativa vigente relativa al bienestar animal en explotaciones ganaderas (Real Decreto 348/2000 modificado por el Real Decreto 441/2001), establece la obligación de proveer un medio ambiente óptimo para los animales: *“las técnicas constructivas permitirán que la circulación del aire, el nivel de polvo, la temperatura, la humedad relativa del aire y la concentración de gases se mantengan dentro de los límites que no sean perjudiciales para los animales”*. Sin embargo, no se han desarrollado en ningún país miembro criterios específicos para conseguir dicho objetivo, aunque existen algunos estudios que aportan una serie de recomendaciones para las distintas especies animales.

En este sentido, la Comunidad Europea acaba de adoptar un plan de acción destinado a mejorar la protección y el bienestar animal durante los próximos cinco años que además de impulsar la investigación en el campo del bienestar animal pretende fijar unos indicadores estandarizados en toda la Unión Europea (Comisión Europea, 2006).

El presente trabajo pretende ser una valoración inicial del ambiente en los alojamientos porcinos de Navarra, a través de la determinación de diferentes parámetros físico-químicos en distintos tipos de instalaciones ganaderas. Partiendo de este primer chequeo se pretende definir una metodología de evaluación ambiental y de actuación ante problemas concretos en granja.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron un total de 16 naves: 4 cebaderos, 2 gestaciones, 3 maternidades y 7 precebos, ubicados en la Zona Media y en la Ribera de Navarra, siendo el clima predominante de los ensayos el mediterráneo. Las mediciones se realizaron de noviembre a marzo, periodo con necesidades mínimas de ventilación y con una temperatura a mantener en la nave, lo que puede conllevar un mayor riesgo de concentraciones elevadas de gases tóxicos en el interior de los alojamientos. Se muestrearon explotaciones con distintos tipos de suelos, de aislamiento térmico, diferentes sistemas de ventilación y de calefacción, etc.

La Tabla 1 muestra los parámetros evaluados en las explotaciones, así como las características de las mediciones.

Tabla 1: Parámetros evaluados y características de las mediciones.

PARÁMETROS	CARACTERÍSTICAS MEDICIÓN
<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • Humedad relativa • Concentración de dióxido de carbono (CO₂) • Concentración de amoníaco (NH₃) • Concentración de sulfhídrico (SH₂) 	De 3 a 5 días en continuo, ubicando los aparatos en el centro de la nave y en altura.
<ul style="list-style-type: none"> • Polvo total en suspensión (precebos) 	1 hora en el centro de las salas y en altura.

El tratamiento de datos ha consistido en la estimación de valores medios, máximos y mínimos, para lo cual se ha utilizado principalmente el programa Excel 97, empleando de forma complementaria el paquete estadístico SPSS 8.0 (1998).

En la tabla 2 se pueden observar los valores de referencia de bienestar ambiental considerados para los diferentes parámetros evaluados y el tipo de animal alojado.

Tabla 2: Valores de referencia de bienestar ambiental (Institut Technique du Porc; Instituto Técnico y de Gestión Ganadero, 2004 y 2006)

		CEBO	PRECEBO	MATERNIDAD ⁸	GESTACIÓN
TEMPERATURA ¹ (°C)	TCS ²	27 ⁴ -22 ⁵	32 ⁶ -26 ⁷	(18-22) ⁹	28
	TCI ³	21 ⁴ -16 ⁵	28 ⁶ -18 ⁷	(10-13) ⁹	(20-23) ¹⁰
HUMEDAD RELATIVA (%)		50-75	50-75	60-85	65-75
GASES (ppm)	NH ₃	15-20			
	SH ₂	5			
	CO ₂	5000			
POLVO TOTAL (mg/m ³)		10			

1: Emparrillado Total y velocidad de 0,2 m/s.

2: Temperatura Crítica Superior.

3: Temperatura Crítica Inferior.

4: Cerdos de 20 Kg.

5: Cerdos de 110 Kg.

6: 1ª semana y alimentación ad libitum.

7: 7ª semana y alimentación ad libitum.

8: Temperatura general de la sala.

9: Según peso.

10: En función del racionamiento: 2,3 kg/día (23°C)-2,8 kg/día (20°C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en los controles ambientales.

Tabla 3: Resultados

		CEBO (n=4)	PRECEBO (n=7) ²	MATERNIDAD (n=3)	GESTACIÓN (n=2)
Temperatura (°C)	x ± σ (SEM) ¹	23,1±1,3 (0,7)	25,2±2 (0,9)	23±1,3 (0,8)	18,6±16,5 (4,6)
Humedad relativa (%)		60,7±9,6 (4,8)	57,4±15,7 (7)	66±18 (10,4)	54,6±2,6 (1,8)
NH ₃ (ppm)		1,8±2,4 (1,2)	0,5±0,8 (0,3)	0,5±0,6 (0,3)	2,2±2,2 (1,5)
SH ₂ (ppm)		0,4±0,5 (0,2)	0,2±0,1 (0,0)	1±0,4 (0,2)	0,3±0,1 (0,1)
CO ₂ (ppm)		2586±1172 (586)	1862±479 (181)	2406±1092 (630)	1969±726 (513)
Polvo Total (mg/m ³)				5±3,9 (1,9)	

1: x̄: valor medio, σ: desviación típica y SEM: error típico.

2: En Polvo Total n=4.

La climatología exterior a lo largo de las mediciones fue muy variable, siendo lo habitual en estas zonas.

En general, las condiciones térmicas de los alojamientos fueron buenas, con temperaturas medias dentro de la zona de confort. No obstante, señalar que tanto en los cebos como en las maternidades se registraron, en algún momento, valores por encima de las temperaturas críticas superiores, pudiendo ocasionar caídas en el consumo de pienso.

Asimismo, mencionar que en 3 de los 4 cebaderos controlados, todos ellos con ventilación natural, se observaron oscilaciones térmicas superiores a los 5°C dentro de una misma jornada, lo que pudo tener un efecto estresante sobre los animales.

La humedad relativa media se situó dentro del rango recomendado para cada tipo de producción exceptuando las gestaciones donde se encontró por debajo del mismo. A pesar de ello, en todos los casos se detectaron valores fuera del rango recomendado. Así, en algunas granjas se llegaron a alcanzar humedades relativas próximas al 100%, lo que pudo ocasionar condensaciones sobre las superficies frías de los alojamientos y valores inferiores al 40% lo que pudo fomentar el secado de las mucosas y la aparición de toses irritativas en los animales.

Aunque en todas las producciones las concentraciones medias de los gases nocivos se encontraron por debajo de los valores máximos admisibles, en algunos cebaderos, precebos y gestaciones se llegaron a registrar concentraciones puntuales significativas, especialmente de amoniaco, que pudieron ocasionar malestar en los animales. Destacan, por ejemplo dos cebaderos con ventilación natural y un precebo con ventilación forzada y calefacción por tubos delta, en los que se alcanzaron concentraciones puntuales de 25-30 ppm de amoniaco. El gas sulfhídrico se detectó, en general, en concentraciones bajas y solamente en un cebadero con ventilación natural y en una nave de gestación con ventilación forzada se registraron valores superiores a los 5 ppm críticos. Del mismo modo, hubo situaciones en las que se detectaron valores puntuales de dióxido de carbono por encima de los 5000 ppm, lo que parece advertirnos de que la renovación del aire en ciertos momentos es insuficiente.

La determinación de la cantidad de polvo total en suspensión en las 4 salas de transición de lechones, parece indicar la no existencia, en general, de riesgo higiénico con una concentración media inferior a los 10 mg/m³.

Se puede concluir que, en general, la calidad ambiental de las explotaciones muestreadas parece ser buena, con unos parámetros ambientales la mayor parte del tiempo dentro de los valores recomendados. Sin embargo, sería conveniente la realización de un control ambiental más profundo en aquellas granjas en las que se han detectado problemas puntuales en base al cual poder proponer soluciones concretas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- *Comisión Europea*: "Documento de trabajo de la Comisión relativo a un Plan de Acción Comunitario sobre Protección y Bienestar de los animales 2006-2010", Bruselas, 2006.
- *De la Torre, A. y Arce, A. y Díez, J.A. y Carballo, M. y Vallejo, A.*: Porci, 77, 2003.
- *Groot Koerkamp, P.W.G. y Metz, J.H.M. y Uenk, G.H. y Phillips, V.R. y Holden, M.R. y Sneath, R.W. y Short, J.L. y White, R.P. y Hartung, J. y Seedorf, J. y Schröder, M. y Linkert, K.H. y Pedersen, S. y Takai, H. y Johnsen, J.O. y Wathes, C.M.*: Journal of Agricultural Engineering Research, nº70, 1998.
- *Hartung, J. y Phillips, V. R.*: Journal of Agricultural Engineering Research, vol.57, 1994.
- *Hinz, T y Linke, S.*: Journal of Agricultural Engineering Research, vol.70, 1998.
- *Institut Technique du Porc*: material diversos cursos.
- *Instituto Técnico y de Gestión Ganadero*: "Control Ambiental en Alojamientos Ganaderos de Navarra I y II", 2004 y 2006.
- *Massabie, P.*: TechniPorc, vol.23, nº3, 2000.
- *Quiles, A. Y Hevia, M.L.*: Producción animal, nº 202, Septiembre 2004.

CALIDAD AMBIENTAL EN ALOJAMIENTOS OVINOS DE NAVARRA: REPERCUSIONES SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL

Aguilar M., Eguinoa P., Maeztu F.A.

Instituto Técnico y de Gestión Ganadero, S.A. Avda. Serapio Huici, 22. Edificio Peritos.
31610-Villava (www.itgganadero.com). E-mail: maguilar@itgganadero.com

INTRODUCCIÓN

El entorno que rodea al animal va a condicionar el correcto desarrollo de sus funciones y la expresión de todo su potencial genético. Precisamente, unas condiciones ambientales adversas pueden desencadenar trastornos en la conducta y en la fisiología que conlleven una menor producción y de peor calidad, afectando a la rentabilidad de la explotación.

Así, alojamientos mal ventilados, con una elevada densidad animal, una iluminación deficitaria, etc. permiten la proliferación de niveles de humedad, de partículas en suspensión y de gases nocivos que pueden repercutir negativamente en la salud animal, favoreciendo la aparición de mamitis, de problemas pulmonares que afecten a la producción de leche y al crecimiento de los corderos (ITOVIC, 1991).

La normativa vigente relativa al bienestar animal en explotaciones ganaderas (Real Decreto 348/2000 modificado por el Real Decreto 441/2001), establece la obligación de proveer un ambiente óptimo para los animales: *“las técnicas constructivas permitirán que la circulación del aire, el nivel de polvo, la temperatura, la humedad relativa del aire y la concentración de gases se mantengan dentro de los límites que no sean perjudiciales para los animales”*. Sin embargo, no se han desarrollado en ningún país miembro criterios específicos para conseguir dicho objetivo, aunque existen algunos estudios que aportan una serie de recomendaciones para las distintas especies animales.

En este sentido, la Comunidad Europea acaba de adoptar un plan de acción destinado a mejorar la protección y el bienestar animal durante los próximos cinco años que además de impulsar la investigación en el campo del bienestar animal pretende fijar indicadores estandarizados en toda la Unión Europea (Comisión Europea, 2006).

El presente trabajo pretende ser una valoración inicial del ambiente en los alojamientos ovinos de Navarra, a través de la determinación de diferentes parámetros físico-químicos en distintos tipos de instalaciones ganaderas. Partiendo de este primer chequeo se pretende definir una metodología de evaluación ambiental y de actuación ante problemas concretos en granja.

MATERIAL Y MÉTODOS

En ovino de carne se evaluaron un total de 18 naves, 3 se encontraban en la Ribera, 2 en el Pirineo Nororiental y el resto en la Navarra Media, por lo que los climas predominantes de los ensayos son el mediterráneo y el submediterráneo. Las mediciones se iniciaron la segunda quincena de noviembre y duraron hasta la primera semana de febrero. De las 18 naves tan sólo 2 son semiabiertas, el resto son alojamientos cerrados, entre los que se encuentran 2 naves tipo túnel, aunque principalmente destacan las naves cerradas a dos aguas. En todas ellas la ventilación es natural y la estabulación en cama caliente. A la hora de interpretar los resultados, hay que tener presente que en prácticamente todos los casos el ganado se maneja de forma semiextensiva, con estabulación invernal y/o durante las épocas de partos, encontrándose los animales la mayor parte del año al aire libre. Como excepciones figuran un centro de tipificación y un cebadero de corderos, ambos ubicados en la Ribera, con estabulación permanente.

En ovino de leche se evaluaron un total de 10 naves, la mayor parte de ellas situadas en la Zona Norte y Noroeste de Navarra, por lo que el clima predominante de los ensayos es el cantabro-atlántico. Las mediciones se iniciaron la segunda semana de febrero prolongándose hasta mediados de marzo. Todas las naves son cerradas a dos aguas y con ventilación natural, exceptuando una explotación provista de ventilación dinámica. Cabe mencionar que en el momento de las mediciones, los ventiladores funcionaban al régimen

mínimo (75 Voltios). En cuanto a los alojamientos, en 4 granjas había parrilla y en las 6 naves restantes cama caliente. En la mayoría de las explotaciones el ganado permanece estabulado durante el invierno y parte de la primavera, saliendo entre ordeños en cuanto el tiempo lo permite. En estabulación permanente solamente se encontraban las ovejas de 2 granjas, siendo éstas de razas foráneas.

La Tabla 1 muestra los parámetros evaluados en las explotaciones, así como las características de las mediciones.

Tabla 1: Parámetros evaluados y características de las mediciones.

PARÁMETROS	CARACTERÍSTICAS MEDICIÓN
<ul style="list-style-type: none"> • Temperatura • Humedad relativa • Luz • Concentración de amoníaco (NH₃) • Concentración de sulfhídrico (SH₂) 	48 horas en continuo, ubicando los aparatos en el centro de la nave y en altura.
<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de dióxido de carbono (CO₂) 	1 hora en continuo por toda la nave.
<ul style="list-style-type: none"> • Ruido en el ordeño 	1 hora en continuo durante el ordeño.

El tratamiento de datos ha consistido en la estimación de valores medios, máximos y mínimos, para lo cual se ha utilizado principalmente el programa Excel 97, empleando de forma complementaria el paquete estadístico SPSS 8.0 (1998).

En la Tabla 2 pueden observarse los valores de referencia de bienestar ambiental considerados para los diferentes parámetros evaluados y el tipo de animal alojado.

Tabla 2: Valores de referencia de bienestar ambiental (Institut Technique de L'élevage Ovin et Caprin, 1991; Buxadé, C. y Rivero, J., 1998; Instituto Técnico y de Gestión Ganadero, 2004 y 2006)

	OVINO LECHE	OVINO CARNE		
	Animales adultos	Vacía/Gestante con vellón	En lactación con vellón	Cordero en cebo
Temperatura (°C)	13-15	6-22	12-20	10-18
Humedad Relativa (%)	70-80	60-70	50-60	70-80
Amoníaco (ppm)	10			
Sulfhídrico (ppm)	5			
Dióxido de carbono (ppm)	5000			
Luz (luxes)	50 durante el día			
Ruido	LAeqd ¹ (dBA)	80		
	LCpk ² (dBC)	135		

1: LAeqd es el nivel diario en continuo equivalente

2: LCpk es el nivel de pico

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La variabilidad de la climatología exterior a lo largo de los controles se vió reflejada en la evolución de las condiciones ambientales dentro de las naves, especialmente durante las determinaciones en explotaciones de ovino de leche, por lo que se ha decidido distribuir estos datos en dos grupos en función del mes en el que se realizó el control. En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos.

En general, las temperaturas se encontraron por debajo o próximas al límite inferior recomendado, mientras que la humedad relativa se situó en la mayor parte de los casos por encima del rango recomendado, pudiéndose originar condensaciones sobre las superficies más frías de las naves, especialmente durante las noches y las mañanas.

Tabla 3: Resultados

		OVINO DE CARNE		OVINO DE LECHE	
		Nave de ovejas (n= 16)	Cebaderos (n=2)	Febrero (n=6)	Marzo (n=4)
Temperatura (°C)		6,5±3,8 (0,9)	8,7±0,6 (0,4)	8,4±2,5 (1)	12,4±3,5 (1,2)
Humedad relativa (%)		84±10,7 (2,7)	94±0,6 (0,5)	87,7±7,5 (3,1)	79,4±13,5 (6,9)
NH ₃ (ppm)		0,04±0,09 (0,02)	0,09±0,04 (0,02)	0,02±0,05 (0,02)	0,04±0,07 (0,03)
SH ₂ (ppm)		0,00±0,00 (0,00)	0,00±0,00 (0,00)	0,00±0,00 (0,00)	0,00±0,00 (0,00)
CO ₂ (ppm)		1713±471 (122)	1474±84 (59)	1063±343 (153)	818±293 (146)
Ruido	LAeqd (dBA)			72,6±2,5 (1,0)	74,7±3,1 (1,6)
	LCpk (dBC)			112,0±8,9 (3,6)	110,2±2,3(1,2)
Rango de luz (luxes)		40-2000	200-300	50-200	50-1000

1: X: valor medio, σ : desviación típica y SEM: error típico.

En relación a los gases tóxicos, las concentraciones medias se situaron por debajo de los valores máximos admisibles en todas las explotaciones. Sin embargo, cabe señalar que mientras el gas sulfhídrico no se detectó en ningún caso, el amoníaco estuvo presente aproximadamente en la mitad de las naves, alcanzando puntualmente en una nave de ovejas de leche y en otra de ovejas de carne los 10 y los 11 ppm, respectivamente. Los niveles de dióxido de carbono en granja se mantuvieron en todo momento por debajo de los 5000 ppm, lo que parece indicar una renovación del aire suficiente para los alojamientos durante las mediciones.

La iluminación en las naves fue durante la mayor parte del tiempo natural, disponiendo todas las explotaciones, excepto una, de luz artificial en caso de necesidad. Esto supone que el nivel de luz va a depender en gran medida de la época del año, del momento del día y de la estructura más o menos abierta de la nave. En general, en todas las cuadras se registraron durante el día valores superiores a los 50 luxes recomendados.

En cuanto a la exposición sonora durante el ordeño, parece que en ninguna explotación se alcanzaron unos niveles de ruido que pudieran afectar a la producción de leche como acto reflejo de una situación desagradable.

En general, se puede concluir que la calidad ambiental de las explotaciones muestreadas parece ser buena, con unos parámetros ambientales la mayor parte del tiempo dentro de los valores recomendados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- *Buxadé, C. y Rivero, J.*: "Alojamientos e instalaciones" en: "Ovino de Carne: Aspectos Clave", coordinador Buxadé, C., Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 1998.
- *Comisión Europea*: "Documento de trabajo de la Comisión relativo a un Plan de Acción Comunitario sobre Protección y Bienestar de los animales 2006-2010", Bruselas, 2006.
- *Institut Technique de l'Elevage Ovin et Caprin (ITOVIC)*: "La Ventilation Thermique des bergeries et chevreries", Technipel, 1991.
- *Instituto Técnico y de Gestión Ganadero*: "Control Ambiental en Alojamientos Ganaderos de Navarra I y II", 2004 y 2006.

EFFECTO DE LOS DOBLES TRANSPORTES SOBRE EL BIENESTAR ANIMAL EN CORDEROS COMERCIALES EN EPOCA CALIDA

Rivero L., María G.A., Miranda-de la Lama G., García Belenguer S., Chacón G., Alierta S., Villarroel M.

Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. *levrino@unizar.es*

INTRODUCCION

El bienestar animal es un tema de creciente importancia en la Unión Europea, pudiendo constituir en un futuro no muy lejano un valor agregado a la calidad del producto que se entrega a los consumidores (María et al., 2006). El transporte desde la granja hasta el matadero constituye un punto crítico de gran importancia en el sistema de producción de carne ovina (Escós et al., 2006). Este punto es además muy visible al consumidor y puede poner en riesgo no solo el bienestar de los animales, sino también la imagen de la industria productora de carne. Tradicionalmente eran los ganaderos los que enviaban directamente sus corderos al matadero. Actualmente el sistema de producción de carne ovina incluye un punto intermedio de acopio y clasificación de corderos en una estructura cooperativa o centro de clasificación. Los centros de clasificación y cebo comercializan actualmente una parte mayoritaria de la producción de carne ovina en Aragón. Con ello se consigue uniformar el producto de acuerdo a la demanda de los consumidores. Esta nueva situación ha producido algunos problemas nuevos que pueden poner en riesgo el bienestar de los animales. Se trata de los dobles transportes. Dependiendo del peso de arribo al centro de clasificación los corderos pueden sufrir dobles transportes en período de tiempo relativamente cortos. El objetivo de este estudio es analizar el efecto de estos dobles transportes sobre el bienestar de los corderos que se comercializan por este sistema.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se realizó en el mes de Julio del año 2006 sobre un total de 72 corderos tipo ternasco de $11,7 \pm 1,03$ kg. de peso canal y aproximadamente 100 días de edad. Las canales tuvieron un 60% de músculo, 12% de grasa y 21% de hueso. Los corderos fueron todos machos y de raza Rasa Aragonesa. Los animales fueron transportados durante 3 horas desde la granja de cría hasta el centro de clasificación y durante 1 hora desde el centro hasta el matadero, con distintos tiempos de estancia en el centro de clasificación. Se efectuaron dos repeticiones con 12 animales por tratamiento escogidos al azar durante el proceso de clasificación de entre los corderos arribados al cebadero el día de la formación de cada lote. Se hicieron tres tratamientos L0, L7 y L28 con 0 días, 7 días y 28 días de estancia en el centro, respectivamente. Con el fin de conocer los valores basales, una semana antes de la carga se tomaron dos muestras de sangre a los corderos en reposo, una para plasma utilizando anticoagulante (EDTA k3) y otra sin anticoagulante para suero. En el momento del desangrado en matadero se tomaron otras dos muestras similares por cordero. Las variables respuesta analizadas fueron los indicadores fisiológicos de bienestar animal y el pH de la carne. Se analizó el cortisol como indicador de actividad del eje corticotropo, glucosa y lactato como indicadores de gasto energético y la actividad de la enzima Creatinina Kinasa (CK). El cortisol se determino por medio de un kit comercial (CT-RIA-I125) y los demás parámetros se analizaron por medio de un multianalizador Technicon Analyser (RA-500). Se determinaron los indicadores hematológicos hematocrito, recuento globular y ratio neutrófilo:linfocitario (N:L). El sacrificio se efectuó en un matadero homologado por la UE (Mercazaragoza) con un tiempo de espera habitual de aproximadamente 8 horas. Al día siguiente del sacrificio se midió el pH 24 horas *post mortem* (pH24) de la carne a nivel del músculo L. dorsi mediante un electrodo de penetración Crisol 507. La temperatura media durante el viaje se registró de forma continua mediante equipos Testo® a intervalos de 5 minutos. La temperatura media durante el viaje fue de 32 ± 1 °C y durante la espera de 28 ± 1 °C. Se estimaron los estadísticos

descriptivos y se analizó el efecto de los tratamientos mediante la técnica de mínimos cuadrados. Se aplicó un modelo de efectos fijos incluyendo el factor de variación tipo de transporte (TT) con cuatro clases: L0, L7, L28 y grupo basal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las medias de mínimos cuadrados para las variables respuesta de estrés analizadas. Todos los parámetros analizados se vieron afectados por efecto del transporte, cuando se comparan con el grupo control. Los niveles de cortisol fueron superiores en el lote que sufrió un doble transporte con menos de un día en el centro de clasificación. Cuando se compara al lote basal con el lote L0, el incremento en L0 fue de un 76%. A su vez las diferencias se siguieron incrementando con los días de estancia de los animales en el centro de clasificación. Para el grupo L7 la diferencia fue del 194 % por encima de los valores basales y del 67 % para el grupo L0. Por último la diferencia entre L28 con respecto a los niveles basales fue del 270 %, y con respecto al lote L7 de un 26 %. La glucosa mostró diferencias significativas entre lotes. La diferencia de los basales sobre el L0 fue de -26 %. Entre los lotes L0 y L28 no hubo diferencia significativas, pero si de estos con respecto a L7, siendo L0 y L28 los valores más bajos. Para lactato, se encontraron las menores diferencias. La enzima CK fue otra de las variables que resultó significativamente afectada cuando se comparó con los valores basales. La diferencia fue del 264 % de los valores del L0 con respecto a los valores de referencia. Ello se pudo deber a la elevada actividad muscular e incluso al posible daño de fibras como consecuencia del estrés social que sufren los animales al llegar al centro. No se hallaron diferencias significativas entre los lotes L0, L7 y L28. Si bien el lote L7 fue más bajos que los lotes L0 y L28. El ratio N:L se vio significativamente incrementado en el grupo que permaneció 28 días en el centro, indicando cierto grado de inmunodepresión en los corderos que permanecen más tiempo en el mismo. La calidad comercial de la carne no se vio afectada en términos de pH (Tabla 1). Por tanto podemos decir que estamos ante un problema más relacionado con la calidad ética del producto y no con la calidad intrínseca del mismo. Ello dificultará que la industria invierta en mejoras relacionadas con la optimización de las condiciones de bienestar animal de los corderos. A la vista de los resultados obtenidos y en las condiciones de este experimento, podemos afirmar que los dobles trasportes afectaron de forma significativa el bienestar de los corderos que llegan al centro de clasificación. Se evidencia un efecto de tipo agudo en aquellos corderos que sufren el doble transporte y la clasificación el mismo día (L0). Posteriormente la acción conjunta y aditiva de estresores multifactoriales derivados de la mezcla de corderos, la novedad del nuevo ambiente y las diversas labores de manejo, actúan de forma crónica, produciendo en los corderos cierto grado de inmunodepresión. En general la utilización de centros de acopio y clasificación de corderos de procedencia diversa, supone un desafío para los mecanismos adaptativos de los animales. El buen manejo y las excelentes instalaciones con que cuenta la empresa, han minimizado el coste biológico del estrés sufrido por los corderos, los que parecen adaptarse eficientemente a la nueva situación. En general los dobles transportes constituyen un estresor de magnitud media, que sumado al cambio de ambiente y a la mezcla de animales de diferentes procedencias, pueden llevar a una reducción de las defensas de los corderos y a una mayor propensión a desarrollar patologías ambientales de carácter multifactorial. Los resultados reflejan que si bien la logística del sistema de producción puede verse mejorada con la incorporación de centros de clasificación, así como una mayor homogeneidad del producto que llega a los consumidores, sus instalaciones y manejo deben ser óptimos con el fin de minimizar los efectos del estrés provocado a los animales

Tabla 1. Medias de mínimos cuadrados (\pm SE) para las variables de estrés analizadas.

Variable	Lote 0 (L7)	Lote 7 (L7)	Lote 28 (L28)	Grupo Basal
Cortisol ng/ml	13,12 \pm 3,46 b	21, 88 \pm 3,3 c	27,56 \pm 3,4 c	7,44 \pm 3,4 a
Lactato mg/dl	25,38 \pm 2,38 b	29,55 \pm 2,05 ^a b	29,53 \pm 2,1 a b	32,95 \pm 2,6 a
Glucosa mg/dl	75,52 \pm 2,20 b	78,69 \pm 2,10 c	75,09 \pm 2,3 b	95,28 \pm 2,8 a
CK UI/l	839 \pm 140 b	699 \pm 137 b	948 \pm 143 b	230 \pm 176 a
GB 3x10 ³	6,45 \pm 0,7 a c	5,20 \pm 1,1 a	8,8 \pm 0,7 b	6,87 \pm 0,7 c
Hematocrito %	35,47 \pm 0,5 a	34,11 \pm 0,6 a c	33,82 \pm 0,7 b c	31,86 \pm 0,7 b
Hemoglobina g/dl	12,47 \pm 0,2 a	12,12 \pm 0,2 a b	11,54 \pm 0,3 b c	11,31 \pm 0,3 c
Ratio N:L	0,44 \pm 0,1 a	0,48 \pm 0,1 a	1,09 \pm 0,1 b	0,49 \pm 0,1 a
pH 24 h	5,51 (\pm 0,01) a	5,52 (\pm 0,01) a	5,51 (\pm 0,01) a	na

GB: Glóbulos blancos. Ratio N:L: ratio Neutrófilos:Linfocitos. CK: enzima creatinina kinasa. na: no disponible.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

María G.A., 2006. Public perception of farm animal welfare in Spain. *Livestock Science* 103: 250-256.

Escós J., María G.A., López J., Alierta S., García Berenguer S., Liste G. 2006. Critical points in transport of lambs to slaughter in Spain that may compromise the animals' welfare. 52nd International Congress of Meat Science and Technology. Dublin. Pp. 529-530.

PRODUCCIÓN FORRAJERA DE CUATRO GERMOPLASMAS DE *Pennisetum purpureum* EN SISTEMAS INTENSIVOS BAJO CORTE.

J. Faria Mármol, B. González, Z. Chirinos,
Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía, Maracaibo, Venezuela
jfariamarmol@cantv.net

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen plantas forrajeras de alto valor genético en producción y calidad de materia seca para ser usados en sistemas intensivos bajo corte entre los cuales destacan algunos materiales del *Pennisetum purpureum* que se han propagado en nuestras condiciones a pesar de la ausencia de estudios comparativos que permitan evaluar los componentes básicos de manejo y la productividad relativa de los distintos cultivares bajo las condiciones secas del estado Zulia, aspecto de gran importancia si consideramos que contar con la especie adecuada es la base fundamental para un manejo exitoso del recurso forrajero. El pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) es una gramínea originaria de África ampliamente distribuida en las regiones tropicales y subtropicales de América, debido a su elevado rendimiento de materia seca (Freitas et al., 2000), calidad, aceptabilidad vigor y persistencia. Las producciones de materia seca anual reportadas en la mayoría de las regiones del trópico bajo donde el pasto elefante es cultivado, supera ampliamente los valores obtenidos con otras gramíneas, sembradas en condiciones similares de humedad y disponibilidad de nutrientes en el suelo. Los reportes de producción de materia seca varían ampliamente desde 6 ton hasta 85 ton de MS/ha/año. Este amplio margen en los rendimientos se debe fundamentalmente a factores de manejo, fertilidad de suelo y a regímenes de precipitaciones. La concentración de nutrientes y digestibilidad de los forrajes depende de la interacción de un gran número de factores, siendo los más relevantes el suelo, la especie forrajera, el clima, el manejo, el estado de madurez de la planta y la época del año. Faria *et al.* (1999); reportaron grandes diferencias en la composición química y los efectos que estas variaciones tienen sobre la digestibilidad de distintos cultivares de pasto elefante que crecen en un mismo ambiente.

Ante esta situación se planteó como objetivo de la investigación: Medir la producción forrajera de cuatro materiales de *Pennisetum purpureum* en sistemas intensivos de corte bajo riego en el bosque muy seco tropical del estado Zulia, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la hacienda Alto Viento (09° 59' 00" LN y 72° 01' 15" LE), unidad de producción propiedad de la Universidad del Zulia, ubicada en el municipio La Cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. En una región considerada como bosque seco tropical, con una precipitación de 680 mm/año y evaporación media de 2300mm. Los suelos, están clasificados como Udic Paleustalf franco fino fase superficial presentan una topografía plana a ligeramente ondulada con acumulaciones de arcilla en el horizonte sub superficial tipificando un horizonte argílico. La textura varía desde la textura franco arcilloso hasta franco arenoso siendo los más predominantes los más pesados o franco arcillosos. Se usó un área de 750 m² donde se demarcaron tres bloques o repeticiones de 144 m² (48mx3m) cada uno. Se empleó un diseño en parcelas divididas, en la parcela principal (36 m²) se asignaron los cuatro materiales bajo estudio (Enano, Morado, King Grass y Maralfalfa) en la parcela dividida de 12 m² (4mx3m) se dispuso los diferentes estados de madurez o edades de corte (30, 45, y 60 días). La unidad experimental contó con una superficie de 6 m² (3mx2m) pero al momento de la cosecha se dejó una bordura de 0.5 m por lado en cada parcela, generando un área efectiva de 2 m² (2x1). El área experimental se sembró con semilla asexual, dispuesta en una densidad de 20.000 plantas/ha (1.0m entre hilera y 0.5 m entre planta) con una fertilización básica de acuerdo al análisis de suelos y requerimientos del género. Se realizaron riegos en surcos (50 mm/semana). Los cortes de evaluación se efectuaron de acuerdo a un cronograma que abarcó 180 días de evaluación (6 cortes a la edad de 30 días, 4 para 45 días y 3 para 60 días). Para estimar el rendimiento de materia seca (kg/ha) se cosechó manualmente el área efectiva de cada parcela (2 m²) cortando a ras del suelo y pesando inmediatamente. Del total cosechado se extrajeron 2 submuestras de aproximadamente 2 kg cada una. En una de ellas se separaron los componentes de hoja, tallo, mientras que en la otra se mantuvo la planta entera. Las

muestras se llevaron a estufa a 65°C, y pesaron al alcanzar peso constante para determinar el porcentaje de materia seca del pasto y estimar el rendimiento por ha de la planta entera y las fracciones hoja y tallo. El contenido en FND, FAD y LAD se determinó según la metodología descrita por Goering y Van Soest (1970) siguiendo la modificación metodológica propuesta por ANKOM₂₀₀ Tecnología Corporation utilizando el analizador de fibra y determinando primero la FND, luego la FAD y por último la LAD. Actualmente en las muestras de planta entera, tallos y hojas se determina el porcentaje de nitrógeno total de la materia seca según Kjeldhal (AOAC, 1990) y la proteína cruda (6,25x N total). La digestibilidad de la materia seca se estima empleando el método de Tilley y Terry modificado por Goering y Van Soest (1970) siguiendo la modificación metodológica propuesta por Ankom Tecnología Corporation, utilizando el aparato incubador **DAISY**^{II}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del germoplasma de *Pennisetum purpureum* y la frecuencia de corte en la producción de materia seca y sus componentes se observan en el Tabla 1.

Tabla 1. Producción forrajera de cuatro germoplasmas de *Pennisetum purpureum* bajo corte.

Germoplasma	Rendimiento de MS (t/ha)	Hoja (%)	Tallo (%)	Relación Hoja/Tallo
Enano	11,6 c	61,1 a	38,8 b	1,69 a
Morado	22,4 a	47,4 b	62,5 a	0,96 b
King Grass	17,1b	44,9 b	55,1 a	0,85 b
Maralfalfa	20,5 a,b	45,3 b	54,6 a	0,85 b
ESM	1,0	2,73	2,73	0,13
Frecuencia (días)				
30	11,8 b	53,9	46,0	1,22
45	16,7 b	48,1	51,8	1,04
60	25,7 a	46,9	53,0	0,99
ESM	1,1	2,33	2,33	0,11

Medias con literales en la misma columna no presentan similitud estadística (Tukey, $P \leq 0.05$).

ESM: Error estándar. N:basado en 36 observaciones.

Los cultivares morado y maralfalfa mostraron los mayores rendimientos de forrajes (Tukey, $P \leq 0.05$). en el periodo de evaluación debido a que mantuvieron una tasa media de crecimiento por encima de 113 kg/ha/día. El elefante enano a pesar que fue el cultivar menos productivo ($P \leq 0,05$) en términos de rendimiento de materia seca, sostuvo un tasa crecimiento de 64,4 kg/ha/día considerada dentro de los rangos propios del cultivar (Santana, 2000) y mostró una relación hoja/tallo significativamente superior a lo observado en los demás materiales que manifestaron similar proporción entre ellos. Esto coincide con los estudios de Araya y Boschini (2005), quienes evaluando el comportamiento de los cultivares Taiwán, King grass, Gigante, Enano y Camerún de *Pennisetum purpureum* encontraron que la relación hojas: tallos siempre fue menor a uno en todos los cultivares, a excepción del Elefante enano con un valor promedio de 1,73, lo que, a su vez, determinó que este cultivar se destacara con el mayor contenido de PB (16,51% en planta entera) debido a la gran producción de hojas.

La frecuencia de corte sólo afectó el rendimiento de materia seca, incrementándose significativamente a medida que la madurez aumentaba. Esto coincide con Vilela et al. (2001), y Meléndez et al., (2000), que ubican los máximos rendimientos de *Pennisetum purpureum* en edades comprendidas entre los 60 y 100 días de edad. En la mayoría de las gramíneas forrajeras tropicales cuando avanza la madurez se da una drástica reducción de la relación hoja:tallo (Albrecht et al., 1987). Sin embargo, en el rango de frecuencias estudiadas que abarca sólo edades relativamente tempranas para estos cultivares no se observó un cambio significativo de la relación hoja /tallo, a pesar que se nota una tendencia a incrementar la proporción de tallos y disminuir paralelamente la proporción de hojas a medida que aumenta la madurez. Los valores de relación hoja/ tallo observados a las diferentes edades consideradas en este trabajo son indicativas de forrajes de buena calidad

bajo condiciones tropicales.

Los resultados preliminares de contenidos de fibras y lignina para los diferentes germoplasmas y frecuencias de corte se observan en la Tabla 2. En términos generales los valores tanto de FND, como FAD, son inferiores a los señalados por Ferreira dos Santos et al. (2003) y no fueron afectados por la frecuencia de corte evaluadas. Estos resultados en general determinan que estamos en presencia de cultivares de muy buena calidad, que muestran valores en todas estas variables por debajo de la mayor parte del resto de cultivares de pasto elefante y de otros géneros y especies de gramíneas en condiciones tropicales. No obstante, debe considerarse que los cultivares estaban en su año de implantación lo que debe asociarse con un menor contenido en residuos secos (y fibrosos) en las macollas.

Los contenidos de FND y lignina resultaron similares para los distintos germoplasmas, notándose diferencias sólo en el porcentaje de FAD con los cultivares morado y King grass como los de mayor concentración de esta variable que frecuentemente se ha asociado negativamente con la digestibilidad. A pesar que se notó un incremento en el contenido de fibras con una disminución de la frecuencia de corte esta no se manifestó significativamente probablemente debido al estrecho margen de frecuencias evaluadas que no permitió comparar edades más avanzadas. Sin embargo, la lignina se incrementó ($P \leq 0.05$) ya que en estas plantas los contenidos de lignina y pared celular tanto de los tallos como de las hojas incrementan significativamente con la edad (Jung y Vogel, 1992).

Tabla 2. Efecto del germoplasma y la frecuencia de corte en el contenido de fibra neutro detergente neutra (FND), y fibra ácido detergente (FAD)

Germoplasma	FND (%)	FAD (%)	Lignina (%)
Enano	59,92	39,08 b	7,95
Morado	60,48	40,69 a	7,08
King Grass	60,90	39,14 a,b	7,75
Maralfalfa	59,09	39,08 b	6,73
ESM	0,86	0,20	0,26
Frecuencia (días)			
30	58,41	38,00	6,87 b
45	60,1	39,43	7,07 a,b
60	62,18	43,06	8,19 a
ESM	0,73	0,26	0,20

Medias con n literales en la misma columna no presentan similitud estadística (Tukey, $P \leq 0.05$).

ESM: Error estándar. N:basado en 36 observaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albrecht KA, Wedin WF, Buxton DR. 1987. *Crop. Sci.*, 27: 735-741.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists (1994) *Official Methods of Analysis* (15th Ed.) Washington D.C.1018. pp.
- Araya, M. M., y Boschini, C. F. 2005. *Agronomía Mesoamericana* 16(1): 37-43.
- Faría.J.R.; B.González; J. Faría Mármol; D.morillo J. (1999). *Communications in Soils Science and Plant Analysis*. XXX, 2259-2266.
- Ferreira dos Santos, M., Batista, D. J., Conceição, S. M., Dos Santos, S. F., Caraciolo, F. R., Leão de Mello, A., Farias, I., y Viana de Freitas, E. 2003. *R. Bras. Zootec.*, v.32, n.4, p.821-827,
- Freitas, N. S. A. de; Falcão, T. M. M. de A; Burity, H. A.; Tabosa, J. N. e Silva, M. V. da. 2000. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.35, n.6, p.1125-1133.
- Goering, M. K. and P. J. Van Soest. 1970. *Agricultural Handbook No. 379*, USDA, Washington DC.
- Jung HG, Vogel KP. 1992. *J. Sci. Food Agric.* 59: 169-179.
- Meléndez, J. L., Giraudy, G. I., Iglesias, O. 2000. *Rev. Prod. Anim.* Vol 12 Sept. 1999/jul.
- Murethi J.G, Thorpe W, Tayler RS, Reynolds L. 1994. *Trop. Agric. (Trinidad)* 71:83-87.
- Vilela, H., Vilela, D., Barbosa, F. A., y Benedetti, E. 2002.. *Anais da XXXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.* julho de 2002.URPE-Recife/PE, CD.

EFECTO DEL APLAZAMIENTO DEL USO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE FORRAJE, CONTENIDO DE PROTEÍNA BRUTA Y DIGESTIBILIDAD DE LA ASOCIACIÓN BUFFEL-LEUCAENA.

J. Faria Mármol¹, A. Sánchez².

¹ Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía, Maracaibo, Venezuela. ² Instituto de Investigaciones Agrícolas de Falcón, Coro, Venezuela. jfariamarmol@cantv.net

INTRODUCCIÓN

En muchas regiones del trópico la distribución irregular de las lluvias durante el año, acarrea una desigual producción animal ya que durante los períodos de sequía se reduce la oferta de forraje en cantidad y calidad, disminuyendo la productividad del rebaño. Una de las alternativas de bajo coste para aliviar esta situación es el aplazamiento estratégico del uso de los pastizales. Sin embargo, esta práctica acarrea una pérdida importante en el valor nutritivo del material diferido. La incorporación en la pastura de leguminosas adaptadas a la sequía ha permitido mejorar la producción de materia seca e incrementar el valor nutritivo del forraje (Faria Mármol *et al.*, 2005a). Así mismo, en la región semiárida del Estado Zulia existen evidencias del efecto del aplazamiento estratégico de la utilización de las asociaciones gramíneas-leguminosas usando especies adaptadas a ambientes secos, las cuales a través de esta integración logran atenuar los efectos adversos que el déficit hídrico y la madurez tienen sobre la producción, composición y digestibilidad de la materia seca (Faria Mármol *et al.*, 2005b).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de aplazar la edad de utilización del pastizal sobre el rendimiento de Materia Seca, contenido de proteína bruta y digestibilidad de la materia orgánica producida por la asociación Buffel (*Cenchrus Ciliaris*) – leucaena (*Leucaena leucocephala*) en un ambiente de bosque muy seco tropical.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en el campo Experimental La Cañada, ubicado en el Estado Zulia, Venezuela; localizado geográficamente a los 10° 32' Latitud Norte y 71° 42' Longitud Oeste, correspondiendo a un bosque muy seco tropical, con una precipitación de 600 mm/año, una temperatura media de 28 °C y una evapotranspiración de 1662 mm. Los suelos son de textura franco-arenosa, pH 5,5 con valores de Ca, Mg, Na y K de 0,6; 0,3; 0,1 y 0,17 mg/100g de suelo; la capacidad de intercambio catiónico (36 me/100g) y P₂O₅ (6 ppm) son relativamente bajos. Se usó una superficie total de 388,8 m² repartidos en tres bloques de 129,6 m² que a su vez se subdividieron en cuatro parcelas con un área efectiva de cosecha de 2,5 m². En ellas, la leguminosa se sembró en hileras espaciadas 1,75 m y 0,25 m entre plantas, mientras que el Buffel fue sembrado a un espaciamiento de 0,25 m x 0,25 m. El experimento fue de factor único siendo éste el aplazamiento de la edad de utilización (E) tomando como testigo la frecuencia de corte tradicional de 42 días, conformando los tratamientos: E₀: 0, E₁:42, E₂:84, y E₃:126 días de aplazamiento correspondientes a 42, 84, 126, y 168 días de crecimiento respectivamente. Se usó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. En cada periodo de aplazamiento se evaluó la producción de biomasa aérea (PMS) y procesaron muestras compuestas de hojas y tallos para Buffel y fracción fina (pinna, pecíolos y tallos < de 5 mm de diámetro) para leucaena. Las muestras fueron colectadas a una altura de cosecha de 0,6 m para la leucaena y ,0,10 para buffel. Se determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) por el método de Tilley y Terry modificado (Alexander, 1966) y contenido de proteína bruta (PB) por el método de Kjeldahl (AOAC,1994). Los datos obtenidos, fueron sometidos a análisis de varianza utilizando un Modelo Lineal General del Sistema de Análisis Estadístico SAS, con una comparación de medias a través de la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias (P>0,05) en la (PMS) de las distintas (E) en ambas especies. Con el inicio de la época seca se notó una reducción drástica de la tasa de crecimiento que mantuvo estable en el tiempo la PMS y no permitió observar los

incrementos productivos señalados con esta práctica en condiciones de déficit hídrico menos severo (Molina *et al.*, 1996). La PMS media acumulada de la asociación fue de 446,5 g/m², y la *Leucaena leucocephala* aportó la mayor parte del material producido con 286,9 g/m² (64,2%) evidenciando su excelente potencial para producir bajo condiciones de severo déficit hídrico. La producción de biomasa aprovechable (pinna, pecíolos y tallos < de 5 mm de diámetro) de *Leucaena* se mantuvo sin cambios para los distintos (E), no obstante, E₀ mostró una proporción de material grueso (no comestible) menor a la observada en los tratamientos con aplazamientos de cosecha lo que puede atribuirse a la influencia que la madurez tiene en el incremento de la proporción de tallos (Harris, 1990).

El efecto del aplazamiento en los componentes de la materia seca del pasto Buffel se presentan en la Tabla 1. El pasto Buffel mostró un deterioro progresivo de la proporción de los componentes de la materia seca, a medida que el periodo de aplazamiento (E) se alargó, disminuyó (P≤0.05) la fracción de mejor valor nutritivo (hoja) e incrementó proporcionalmente la fracción de material muerto, desmejorando la disponibilidad de biomasa aprovechable. En *Leucaena* el tratamiento sin aplazamiento (E₀) mostró una menor proporción de material grueso lo que puede atribuirse a la influencia de la madurez, sin embargo, la disminución del material fino (de mejor valor forrajero) no fue significativa. La respuesta más común en la mayoría de los forrajes es que con avances en la madurez sufren una reducción de la relación hoja/tallo (Alberch *et al.*, 1987). Adicionalmente el estrés hídrico disminuye el tamaño de las hojas nuevas y aumenta la senescencia de las hojas viejas incrementando la proporción de material muerto (Harris, 1990). El inicio de las lluvias provocó un rápido incremento (P≤0.05) de la relación hoja/tallo en E₄ evidenciando la adaptación del pasto Buffel a la intensidad y duración del estrés hídrico propio de la zona.

Tabla 1. Efecto del aplazamiento de utilización en la composición de materia seca del *Cenchrus ciliaris*.

E (días)	Fracciones de la materia seca					
	Hojas		Tallos		Material muerto	
	g/m ²	EE	g/m ²	EE	g/m ²	EE
E ₀ (42)	74,08 a	1,89	64,49	10,23	31,91b	5,28
E ₁ (84)	31,07ab	2,17	58,91	2,46	43,27ab	0,78
E ₂ (126)	9,73bc	0,69	51,09	3,50	65,47ab	3,93
E ₃ (168)	6,71c	1,12	82,02	10,79	116,7a	13,82
E ₄ (210)	71,4 a	3,07	58,24	3,58	69,84ab	3,22

Medias con literales en la misma columna no presentan similitud estadística (Tukey, P≤0.05).

En la tabla 2 se presentan los resultados del efecto de aplazamiento de utilización en el contenido de proteína bruta (PB) y digestibilidad in vitro de la materia orgánica (DIVMO) de las especies asociadas *C. ciliaris* y *L. leucocephala*. La concentración de proteína en el pasto Buffel a pesar del efecto negativo de la sequía y la madurez avanzada se mantuvo con un valor semejante o por encima de 7%, considerado como el nivel mínimo para obviar una disminución del consumo voluntario en rumiantes a pastoreo (Minson, 1990). No obstante, estos valores resultaron inferiores a los obtenidos por Caraballo y González (1991) a edades menores. La *Leucaena* superó en un 62,08% el contenido de PB del Buffel y como es característico en las leguminosas no cambió significativamente su concentración con avances en la madurez, notándose sólo una ligera tendencia a disminuir lo que apuntala las bondades nutricionales de la especie y la asociación para el manejo del aplazamiento de utilización.

La concentración de proteína bruta de la leucaena aún con una madurez de 168 días de crecimiento y un prologado estrés hídrico, fue superior a los máximos niveles encontrados en buffel, y en concordancia con los niveles reportados para esta especie en Venezuela (Faría-Mármol *et al.*, 1996) y otras regiones tropicales (Murethi *et al.*, 1994). El avance de la madurez disminuyó significativamente la proporción de materia orgánica digestible del pasto Buffel mientras que en leucaena se mantuvo sin cambios significativos a pesar de observarse una clara tendencia a disminuir.

La característica más común en la mayoría de las gramíneas forrajeras cuando avanza la madurez es una drástica reducción de la relación hoja:tallo (Albrecht *et al.*, 1987). Además, en estas plantas los contenidos de lignina y pared celular tanto de los tallos como de las hojas incrementan significativamente con la edad (Jung y Vogel, 1992) y en consecuencia su digestibilidad disminuye linealmente. Sin embargo, a pesar que un efecto similar ha sido reportado en tallos de leguminosas, sus hojas se mantienen sin variación en los contenidos de lignina, pared celular y porcentaje de digestibilidad atenuando el efecto negativo de la edad (Albrecht *et al.*, 1987). La presencia de la leucaena en la pastura asociada, permite mejorar el valor nutritivo del forraje en oferta aún en condiciones de fuerte déficit hídrico y madurez avanzada debido a sus mayores concentraciones de proteína cruda en el follaje y mejor digestibilidad de la materia orgánica en todos los periodos de aplazamiento de utilización con respecto al buffel.

Tabla 2. Efecto de aplazamiento de utilización en el contenido de proteína bruta (PB) y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO) de las especies asociadas *C. ciliaris* y *L. leucocephala*.

E (días)	<i>Cenchrus ciliaris</i>		<i>Leucaena leucocephala</i>	
	PB(%)	DIVMO(%)	PB(%)	DIVMO(%)
E ₀ (42)	10,6 ^a	47,7a	23,2	57,5
E ₁ (84)	8,96b	42,2b	25,3	56,6
E ₂ (126)	7,78bc	41,5b	20,5	47,6
E ₃ (168)	6,88c	38,0c	21,2	49,9
E ₄ (210)	7,20bc	40,9bc	21,5	48,4
ES	0,52	2,08	0,86	1,47

Medias con literales en la misma columna no presentan similitud estadística (Tukey, P<0.05).

ES: Error estándar. N:basado en 30 observaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, RH. 1966. Establecimiento de un sistema de digestibilidad *in Vitro* en el laboratorio, pp. 101-114. In: Métodos *in Vitro* para Determinar el Valor Nutritivo de los Forrajes. Memorias del Simposium. La Estanzuela. Uruguay.
- Albrecht KA, Wedin WF, Buxton DR. 1987. "Cell-wall composition and digestibility of alfalfa stems and leaves". *Crop. Sci.*, 27: 735-741.
- A O A C Association of Official Analytical Chemists. 1994. Official Methods of Analysis (15th Ed.) Washington D.C. 1018 pp.
- Caraballo A, González B. 1991. Respuesta del pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris*, cv *Viólela*) a diferentes frecuencias y alturas de corte y niveles de fertilización nitrogenada. *Revista de Agronomía (LUZ)* 8:167-185.
- Faria-Mármol J, Morillo D, McDowell LR. 1996. *In vitro* digestibility, crude protein, and mineral concentrations of *Leucaena leucocephala* accessions in a wet / dry tropical region of Venezuela. *Commun.Soil Sci..Plant .Anal.* 27: 2663-2674.
- Faria-Mármol J, Morillo D, Chirinos Z. 2005a. Effect of defoliation frequencies on the dry matter yield and nutrient content *Centrosema* species. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.*13(1):1-6.
- Faria-Mármol J, Sánchez A, Araque C. 2005b. Efecto del aplazamiento de utilización de la asociación buffel-leucaena en el contenido de nutrientes. *BIOTAM Nueva Serie. Edición Especial:*472-474.
- Harris, P.J. 1990. Plant cell wall structure and development. En: D Akin, L jungdahl, J Wilson y P Harris (eds) *Microbial and plant opportunities to improve lignicellulose utilization by ruminant*. New York.
- Jung HG, Vogel KP (1992) "Lignification of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) and big bluestem (*Andropogon gerardii* Vitman) plant parts during maturation on its effects on fibre degradability". *J. Sci. Food Agric.* 59: 169-179.
- Martínez M, Tergas LE, Méndez-Cruz, AV.1 990. Producción de forraje y valor nutritivo de *Leucaena leucocephala* en la región semiárida de Puerto Rico. *Pasturas Tropicales.* 12: 25-28.
- Mison DJ (1990) *Forage in ruminant nutrition*. Academia Press Inc.,San Diego,California, USA.483 pp.
- Molina J, Faria- Mármol J, Chirinos Z. 1996. Efecto de diferir la época de utilización y calidad de la asociación *Panicum maximum-Leucaena leucocephala*. *Pasturas Tropicales.* 18:51-54.
- Murethi J.G, Thorpe W, Tayler RS, Reynolds L. 1994. Evaluation of accessions for the semi-humid lowland tropico of East Africa. *Trop. Agric. (Trinidad)* 71:83-87.

CAPTURA Y FLUJO DE CARBONO EN SILVOPASTOREO CON BOVINOS EN EL TROPICO COLOMBIANO

L. A. Giraldo, M. Zapata y E. Montoya

Departamento de Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Calle 64 N° 59-20, Medellín

INTRODUCCIÓN

Las tendencias actuales de la producción animal en el trópico, hacen énfasis en modelos que tengan un desarrollo armónico entre los aspectos sociales, ambientales y económicos. En los últimos años se viene acumulando una creciente fuente de conocimientos y evaluaciones sobre el potencial de los sistemas silvopastoriles para la producción animal, lo que permitirá avanzar más rápido en la construcción de nuevos modelos sostenibles que aprovechen el potencial de los agroecosistemas para ofertar productos, ingresos y servicios ambientales. En Colombia el silvopastoreo ha mostrado mejora de la cantidad y calidad nutricional de la dieta en oferta, mayor carga animal, mayor reciclaje de nutrientes y como consecuencia mayor productividad animal (Giraldo, 2000). Se fijó como objetivo evaluar y desarrollar un protocolo para la medición de la captura de carbono en diferentes compartimientos y el flujo entre animales y el suelo, como un servicio ambiental en un sistema silvopastoril (SSP) en clima cálido de Colombia, cuyo propósito final es la implementación de proyectos Mecanismo de Desarrollo Limpio (MDL) dentro del protocolo de Kyoto.

MATERIAL Y METODOS

En Colombia, en el departamento de Antioquia en el Bajo Cauca, se realizó un proyecto utilizando un SSP de seis años de edad, con una asociación: del árbol leguminoso *Acacia mangium* + la gramínea *Brachiaria dyctioneura* a dos densidades de siembra de árboles [169 árboles/ha, Alta Densidad (AD), y 100 árboles/ha, Baja Densidad (BD)]. La metodología utilizada se basa en la propuesta de Winrock (MacDicken, 1997) y los procedimientos seguidos en Colombia por Orrego et al (2003). La captura de carbono se estimó en los compartimientos: 1) Biomasa aérea de las plantas: comprende la biomasa aérea tanto de árboles y pasturas. 2) Biomasa radical: comprende la biomasa de las raíces de los árboles y las pasturas asociadas. 3) Carbono en suelo: comprende el carbono almacenado en el suelo en formas húmicas. 4) Carbono en heces de animales bovinos. Se seleccionaron 2has y se establecieron aleatoriamente tres parcelas permanentes circulares de 500 m² en cada SSP de AD y BD. El área asignada de 2 has, como testigo (pasto sólo), se considero como única parcela en su totalidad. Se realizó un inventario inicial de árboles, se midió el perímetro del fuste con cinta métrica y se realizó la primera medición con microendrómetro. La altura de los árboles se midió con un hipsómetro mecánico al 30% de los árboles en cada parcela. Para estimar la biomasa aérea de los árboles se utilizó el método de las ecuaciones de biomasa, cosechando 6 árboles, con corte a ras del suelo. Para calcular la masa verde del árbol se separó por componentes (hojas, ramas y fuste) y se pesó en campo en su totalidad, tomando muestras de 500 g para cada componente y secándolas para obtener masa seca. Para la extracción de las raíces de los árboles, se rastreó el sistema radicular hasta un diámetro mínimo de 5 mm. Todas las raíces de cada árbol se limpiaron y se pesaron en campo y tomaron muestras para determinar el contenido de humedad y encontrar su peso seco. Para el muestreo de las raíces en las pasturas, se utilizó un barreno de golpe para muestreo de raíces, tomando en

cada parcela permanente cinco puntos aleatoriamente hasta una profundidad de 30 cm (dos muestras por punto). Se descongelaron los cilindros de suelo y se separaron las raíces del suelo, mediante el lavado con agua del grifo, usando tela de muselina. Para estimar la biomasa de la pastura se cosechó el forraje que se encuentra disponible exactamente sobre los puntos de muestreo de raíces. Para el muestreo del suelo, se utilizó un barreno sacabocado para extraer seis muestras de 15 cm de alto hasta alcanzar 90 cm de profundidad, estableciendo los siguientes estratos: 0-15; 15-30; 30-45; 45-60; 60-75; y 75-90 cm. Para la estimación del flujo de carbono a través de las heces, se monitorearon 8 hembras bovinas de la raza Brahman, con un peso promedio de 261,8±4 kg. Para la cuantificación de la cantidad de heces producidas por animal en pastoreo libre, se utilizó como marcador interno la fibra en detergente ácido indigerible (Cochran et al., 1988).

RESULTADOS Y DISCUSION

El modelo alométrico ajustado y obtenido para la *A. mangium* es: $Bt = 0,1278D^{2,3635}$ $R^2=0,93$; donde Bt es la biomasa aérea en kg y D es el diámetro normal en cm.

El modelo obtenido para las raíces fue: $\ln(BR) = -2,8642 + 2,1256 \ln(D)$; $R^2 = 0,94$; donde BR es la biomasa radical del árbol y D es el diámetro del fuste. Este modelo se utilizó para predecir la biomasa total del sistema radical hasta 5 mm de diámetro en todos los árboles de cada parcela y luego su equivalente en carbono por hectárea.

Tabla 1. Resumen de las existencias de carbono en cinco compartimientos y el flujo a través de las heces de bovinos en pastoreo.

Compartimiento	SSP- AD	SSP - BD	Testigo
Parte aérea de árboles (t C/ha)	35,52	30,22	---
Parte radical de árboles (t C/ha)	7,08	6,00	---
Parte aérea de pastos (t C/ha)	0,63	1,21	2,49
Parte radical de pastos (t C/ha)	5,90	13,49	15,18
En suelo (0-15 cm) (t C/ha)	16,67	19,66	20,41
Total C (t/ha)	65,80a	70,60a	38,08b
Flujo en heces (tC/UA/ha/año)	0,243a	0,219b	0,216b

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente ($P<0,05$)

La cantidad de carbono (Tabla 1) capturada por los árboles, las pasturas y el suelo ascendió a 65,80 y 70,59 tC/ha para AD y BD respectivamente, cantidades mayores ($P<0,05$) a las encontradas (38,07 tC/ha) en las áreas testigo (sin árboles). El flujo de carbono a través de las heces producidas por los animales fue mayor ($P<0,05$) en el tratamiento AD (0,24 tC/UA/ha/año) respecto a los tratamientos BD y potreros sin árboles o testigo. Alrededor del 65 y del 51% del carbono total almacenado en los SSP de AD y BD respectivamente, corresponden a la parte aérea de los árboles, porcentajes inferiores a los reportados por Andrade (1999) de 76% y 94% para *A. mangium* y *E. deglupta* cuando se asocian con *B. brizantha*, *B. decumbens* y *P. maximum* respectivamente, diferencias debidas principalmente a la edad y densidad de plantación. El monitoreo de la captura de carbono se debe realizar anualmente, con el propósito de poder cuantificar las diferencias de carbono con respecto al área testigo y así poder determinar la adicionalidad ambiental (diferencia de carbono entre la línea base: potrero testigo, y la situación con proyecto: SSP bajo los delineamientos de proyectos de MDL). En la tabla 2, se muestran los incrementos medios anuales (IMA) o tasa de fijación de carbono obtenido. Los valores hallados son altos especialmente para el año 2 ($P<0,05$), comparados con los incrementos

medios anuales reportados para las zonas de vida semejantes, debido a que estos SSP son jóvenes y se encuentran en su período de máximo crecimiento.

Tabla 2. Incrementos medios anuales (IMA) de carbono en SSP de AD y BD, durante dos años.

Densidad/Repetición	IMA (t C/ha/año)	
	Año 1	Año 2
AD/1	5,63	8,38
AD/2	6,59	7,76
AD/3	4,81	9,50
Promedio	5,68±0,89a	8,55±0,88b
BD/1	3,93	9,69
BD/2	6,22	10,26
BD/3	4,34	10,20
Promedio	4,83±1,22a	10,07±0,33b

Promedios con letras iguales no difieren estadísticamente ($P < 0,05$)

Estos valores son mayores a los reportados por Andrade (1999) en Costa Rica (1.75 y 1.8 tC/ha/año) para *A. mangium* y *E. deglupta* respectivamente, puesto que la edad de los SSPs de Colombia es seis años y dos para Costa Rica, además la densidad de plantación es mayor (C. Rica: 370/ha). Pero son incrementos de fijación de carbono semejantes para otras plantaciones forestales tropicales a densidades mayores como: *Pinus caribea*, *Casuarina spp*, *Pinus patula*, *Acacia mearsii*, *Cassia siamea* y *Acacia nilotica* (3,9; 6,0; 5,5; 2,9; 7,8 y 2,8 tC/ha/año respectivamente). En base a la información obtenida, se pudo proponer y probar, una de las primeras propuestas metodológicas de cuantificación del carbono capturado en los diferentes compartimientos en SSP de Colombia. Su mayor virtud se encuentra en la precisión y la intensidad que se utiliza para efectuar dichas determinaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, H. 1999. Dinámica productiva de sistemas silvopastoriles con *Acacia mangium* y *Eucalyptus deglupta* en el trópico húmedo. Tesis Mg. Sci. Turrialba. Costa Rica. CATIE.
- Cochran, R., D. Adams, J. Wallace and M. Galyean. 1988. Predicting digestibility of different diets with internal markers: evaluation of four potential markers. J. Anim. Sc. 63: 1476-1484.
- Orrego, S., Del Valle, I. y Moreno F. 2003. Medición de la Captura de Carbono en Ecosistemas Forestales Tropicales de Colombia. Contribuciones para la Mitigación del Cambio Climático. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Centro Andino para la Economía del Medio Ambiente. Colombia
- MacDicken, K. 1997. A guide to monitoring carbon storage in forestry and agroforestry projects. Winrock International Institute for Agricultural Development. U.S.A.
- Giraldo, L. A. 2000. Sistemas Silvopastoriles: Alternativa Sostenible para la Ganadería en Colombia. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. PRONATTA/ CONISILVO. Colombia.



**CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS
MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA**

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2006-07-08

CIHEAM

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	*MEJORA GENÉTICA VEGETAL	2 Oct. 06/8 Jun. 07	Zaragoza	IAMZ/UdL
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	24 Sep. 07/ 31 Mayo 08	Córdoba	UCO/JA/CSIC/COI/ INIA/IAMZ
	MÉTODOS ESTADÍSTICOS EN GENÓMICA DE PLANTAS	18-29 Feb. 08	Zaragoza	IAMZ
	TENDENCIAS ACTUALES EN AGRICULTURA DE CONSERVACIÓN EN CONDICIONES MEDITERRÁNEAS	31 Mar./4 Abr. 08	Zaragoza	IAMZ/ICARDA/FERT
	CULTIVOS ENERGÉTICOS SOSTENIBLES EN EL MEDITERRÁNEO	5-9 Mayo 08	Zaragoza	IAMZ
	PRODUCCIÓN ANIMAL	PRODUCCIÓN CAPRINA	6-17 Nov. 06	Murcia
TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS: SISTEMAS Y TÉCNICAS		11-15 Dic. 06	Zaragoza	IAMZ
PRODUCCIÓN AVÍCOLA EN CLIMAS CÁLIDOS		5-10 Feb. 07	Zaragoza	IAMZ
BIENESTAR ANIMAL EN LA PRODUCCIÓN GANADERA		12-16 Mar. 07	Zaragoza	IAMZ
CALIDAD DE LA CARNE Y DE PRODUCTOS CÁRNICOS EN RUMIANTES		16-20 Abr. 07	Zaragoza	IAMZ
NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN DE OVINO DE LECHE		14-19 Mayo 07	Vitoria	IAMZ/Neiker
*NUTRICIÓN ANIMAL		1 Oct. 07/6 Jun. 08	Zaragoza	IAMZ/UZ/FEDNA
*MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN		1 Oct. 07/6 Jun. 08	Barcelona/ Valencia	UPV/UAB/IVIA/INIA/ IAMZ

(*) **Cursos de Especialización de Postgrado** del correspondiente Programa Master of Science (*marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 06-07; 08-09; 10-11
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 07-08; 09-10; 11-12
- NUTRICIÓN ANIMAL: 07-08; 09-10; 11-12
- MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN: 07-08; 09-10; 11-12
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 06-07; 08-09; 10-11
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 07-08; 09-10; 11-12
- ACUICULTURA: 06-07; 08-09; 10-11
- ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA: 06-07; 08-09; 10-11

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización de posgrado. No obstante se estructuran en secciones 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 el curso de Olivicultura y elaiotecnía finaliza el 15 de Abril 2007. El plazo de inscripción para los cursos de Nutrición animal, Mejora genética animal y biotecnología de la reproducción y Marketing agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2007. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente, Acuicultura y Economía y gestión de la actividad pesquera finaliza el 1 de Mayo 2008.

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, Libano, 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
MEDIO AMBIENTE	*PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	2 Oct. 06/8 Jun. 07	Zaragoza	IAMZ/UdL
	ECONOMÍA AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	15-26 Ene. 07	Zaragoza	IAMZ
	DISEÑO Y EJECUCIÓN DE PLANES DE GESTIÓN DE SEQUÍAS: ORGANIZACIÓN, METODOLOGÍA Y ACTUACIONES	4-8 Feb. 08	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	INDICADORES AGROAMBIENTALES Y DE DESARROLLO COMO HERRAMIENTAS DE APOYO A LA GESTIÓN SOSTENIBLE DEL MEDIO RURAL	14-18 Abr. 08	Zaragoza	IAMZ
	RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DE RÍOS MEDITERRÁNEOS	9-13 Jun. 08	Zaragoza	IAMZ
COMERCIALIZACIÓN	INVESTIGACIÓN DE MERCADOS AGROALIMENTARIOS: NUEVOS ENFOQUES	25-29 Sep. 06	Zaragoza	IAMZ
	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO: NORMATIVAS, SISTEMAS Y REPERCUSIONES EMPRESARIALES	13-17 Nov. 06	Zaragoza	IAMZ
	TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO DE LOS ALIMENTOS: RESPUESTA A LOS REQUERIMIENTOS DE SEGURIDAD Y DE MERCADO	20-24 Nov. 06	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING DE ACEITE DE OLIVA	26-30 Mar. 07	Zaragoza	IAMZ/COI
	MARKETING DE PRODUCTOS ECOLÓGICOS	21-25 Mayo 07	Zaragoza	IAMZ
	*MARKETING AGROALIMENTARIO	1 Oct. 07/6 Jun. 08	Zaragoza	IAMZ
PESCA Y AGRICULTURA	ESTRATEGIAS, ALTERNATIVAS DE DESARROLLO Y OPCIONES TECNOLÓGICAS EN ACUICULTURA MEDITERRÁNEA	18-23 Sep. 06	Zaragoza	IAMZ/AECI
	* ACUICULTURA	2 Oct. 06/ 30 Mar. 07	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/IAMZ
	*ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA	2 Oct. 06/4 Abr. 07	Barcelona	Univ. Barcelona/ MAPA/IAMZ
	AVANCES EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES Y SU APLICACIÓN AL MANEJO DE REPRODUCTORES	19-24 Feb. 07	Castellón	IAMZ/CSIC-IATS
	DISEÑO Y GESTIÓN DE ARRECIFES ARTIFICIALES DE INTERÉS PESQUERO	7-11 Mayo 07	Zaragoza	IAMZ/MAPA-SGPM
	CONTROL DE LA CALIDAD Y DE LA SEGURIDAD DEL PESCADO Y DE LOS PRODUCTOS DE LA PESCA	11-15 Jun. 07	Zaragoza	IAMZ/FAO
	COMERCIALIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS DEL MAR: TENDENCIAS Y RETO	12-16 Nov. 07	Zaragoza	IAMZ/FAO/ MAPA-FROM
	ORGANIZACIÓN DE SISTEMAS DE ESTADÍSTICAS PESQUERAS	14-18 Ene. 08	Zaragoza	IAMZ/AECI
	SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN Y SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA	10-14 Mar. 08	Tarragona	IAMZ/IRTA
	NUTRICIÓN DE PECES: SOSTENIBILIDAD Y CALIDAD DE LOS PRODUCTOS	26-30 Mayo 08	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

